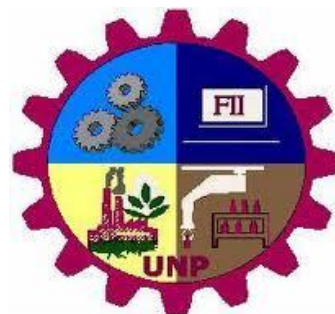


UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE INGENIERIA INDUSTRIAL
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA
AGROINDUSTRIAL E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



TESIS

**“OBTENCIÓN DE QUITOSANO MEDIANTE EL MÉTODO DE
DESACETILACIÓN A PARTIR DE EXOESQUELETOS DE
LANGOSTINO DE CULTIVO “*Penaeus vannamei*””**

Presentado por:

BACH. HANS YORDI SANDOVAL REMAYCUNA

**TESIS PRESENTADA PARA OPTAR EL TITULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

PIURA -PERU, 2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE INGENIERIA INDUSTRIAL
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA
AGROINDUSTRIAL E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



TESIS



**“OBTENCIÓN DE QUITOSANO MEDIANTE EL MÉTODO DE
DESACETILACIÓN A PARTIR DE EXOESQUELETOS DE
LANGOSTINO DE CULTIVO “*Penaeus vannamei*””**

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR EL TITULO DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

ASESOR :

Dr. JUAN QUISPE NEYRA

CO-ASESOR :

MSc. HUALTER LEYTON MASIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA

FACULTAD DE INGENIERIA INDUSTRIAL

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA

AGROINDUSTRIAL E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



TESIS



“OBTENCIÓN DE QUITOSANO MEDIANTE EL MÉTODO DE DESACETILACIÓN A PARTIR DE EXOESQUELETOS DE LANGOSTINO DE CULTIVO “*Penaeus vannamei*””

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR EL TITULO DE:

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
APROBADA POR LOS JURADOS:**

PRESIDENTE

:

Dr. NESTOR JAVIER ZAPATA PALACIOS

VOCAL

:

MSc. LUCIANO CASTILLO TORRES

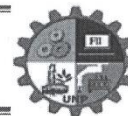
SECRETARIO

:

MBA.VICTOR ENRIQUE CRISANTO PALACIOS



UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE INGENIERÍA INDUSTRIAL
DECANATO



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Calificador de la Tesis denominada: «**OBTENCIÓN DE QUITOSANO MEDIANTE EL MÉTODO DE DESACETILACIÓN A PARTIR DE EXOESQUELETOS DE LANGOSTINO DE CULTIVO (*Penaeus vannamei*)**», presentado por **HANS YORDI SANDOVAL REMAYCUNA** Bachiller de la Escuela profesional en **INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS** asesorado por el **Dr. JUAN IGNACIO QUISPE NEYRA** y co-asesorado por el **Ing. HUALTER LEYTON MASIAS**, Reunidos para la sustentación de ésta y luego de escuchar su exposición y las respuestas a las preguntas formuladas, la declaran:



Con el Calificativo:

APROBADA

MUY BUENO

En consecuencia el sustentante se encuentra **apto** para recibir el título profesional de **INGENIERO AGROINDUSTRIAL E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS** conforme a Ley.

PIURA, 08 de Junio del 2018


Dr. NÉSTOR JAVIER ZAPATA PALACIOS
PRESIDENTE – JURADO CALIFICADOR


MSc. LUCIANO CASTILLO TORRES
VOCAL – JURADO CALIFICADOR


MBA. VÍCTOR ENRIQUE CRISANTO PALACIOS
SECRETARIO – JURADO CALIFICADOR

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada a Dios, ya que gracias a él he logrado concluir mi carrera.

A mis padres y hermanos quienes permanentemente me han apoyado para seguir adelante, también a mi tía que está en el cielo que, desde allí, sé que este logro será una alegría para ella.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor Dr. JUAN QUISPE NEYRA MSc. y co-asesor Ing. HUALTER LEYTON MASIAS MSc. Que gracias a ellos pude tener las facilidades de poder terminar mi proyecto de tesis.

Al ingeniero Felipe Paima y Arquímedes pintado gracias a ellos por brindarme su ayuda y tiempo, ya que se pudo realizar el procedimiento de obtención de quitosano en el laboratorio de microbiología de la facultad de Ingeniería pesquera de la UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA.

RESUMEN

La presente investigación demostró la obtención de quitosano a partir de exoesqueletos de langostino desechados en el terminal pesquero José Olaya de la ciudad de Piura, esto se llevó a cabo mediante el método de desacetilación.

Se llevaron a cabo tres pasos para obtener quitina, estos pasos fueron: desmineralización, desproteínización y despigmentación, y para obtener quitosano se utiliza el método de desacetilación.

La fuente y el método de obtención determinan la composición del quitosano, por este motivo, el grado de desacetilación es el principal parámetro de obligado conocimiento para la caracterización de este polímero. Los resultados demuestran que el quitosano obtenido presenta un porcentaje de pureza de 70.84 % el cual determina quitosano de buena calidad comparado con resultados de otras investigaciones.

Para llevar a cabo la investigación se tomó como referencia los tamices establecidos por la U.S.A ESTÁNDAR TESTING SIEVE, que es el estándar general de tamices que se utiliza para muestras granuladas.

Palabras claves: exoesqueletos, desacetilacion, quitosano.

ABSTRACT

The present investigation showed the obtaining of chitosan from shrimp exoskeletons discarded in the Jose Olaya fishing terminal of the city of Piura, this was carried out by means of the acetylation method.

Three steps were taken to obtain chitin, these steps were: demineralization, deproteinization and depigmentation, and to obtain chitosan the deacetylation method is used.

The source and the method of obtaining determine the composition of the chitosan, for this reason, the degree of deacetylation is the main parameter of mandatory knowledge for the characterization of this polymer. The results show that the chitosan obtained a purity percentage of 70.84%. Which determined chitosan of good quality.

To carry out the research, the established sieves for the STANDARD SIEVE test, which is the general standard of the brands used for the granulated samples, were taken as reference.

Keywords: exoskeletons, deacetylation, chitosan.

INDICE

INTRODUCCION	1
I. ASPECTOS DE LA PROBLEMÁTICA.....	3
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	3
1.2 Justificación e importancia de la investigación	4
1.3 Objetivos	6
II. MARCO TEORICO	7
2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION.....	7
2.2 BASES TEORICAS	9
2.3 GLOSARIO DE TERMINOS BASICOS.....	12
2.4 MARCO REFERENCIAL.....	14
2.4.1 La Quitina	14
2.4.2 Definición	15
2.4.3 Propiedades	15
2.4.4 Estructura química	16
2.4.5 Solubilidad.....	18
2.4.6 Aplicaciones.....	19
2.4.7 Langostino	19
2.4.8 Tamiz	19
2.5 HIPOTESIS	25
III MARCO METODOLÓGICO.....	26
3.1 Enfoque y Diseño.....	26
3.2 Sujetos de la Investigación	27
3.2.1. Universo.....	27
3.2.2 Población	27
3.2.3 Muestra	27
3.3 Métodos y Procedimientos.....	28
3.3.1 Métodos	28
3.3.2 Procedimiento	30
3.3.1.1 DESMINERALIZACIÓN	33
DESMINERALIZACIÓN 1	33

DESMINERALIZACIÓN 2.....	34
3.3.1. DESPROTEINIZACIÓN:	35
DESPROTEINIZACION 1.....	35
DESPROTEINIZACION 2.....	36
3.3.1.3 DESPIGMENTACIÓN	37
DESPIGMENTACIÓN CON ACETONA	37
DESPIGMENTACIÓN CON PERÓXIDO DE HIDROGENO.....	38
3.3.1.4 DESACETILACION	40
3.4 TECNICAS E INSTRUMENTOS.....	42
METODOS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	42
TIPO Y TÉCNICAS DE MUESTREO	42
MÉTODOS, TÉCNICAS.....	42
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
4.1 RESULTADOS	43
4.2 DISCUSION	68
CONCLUSIONES	70
RECOMENDACIONES	72
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	73
ANEXOS	75

INDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Especificaciones de número de tamices.....	23
Tabla 3.1 Diseño Unifactorial Variable Respuesta:	
<i>Porcentaje de pureza</i>	26
Tabla 3.2 Análisis univariado de varianza.....	26
Tabla 3.3 Rendimientos de exoesqueletos respecto al langostino fresco...	30
Tabla 3.4 Tamaño de partícula según número de tamiz.....	32
Tabla 3.5 Diseño experimental	33
Tabla 3.6: Variable de rendimiento en obtención de quitosano.....	42
Tabla 4.1 Porcentaje de rendimiento de quitosano.....	43
Tabla 4.2 Peso de quitosano obtenido	43
Tabla 4.3 Porcentaje de pureza de quitosano	44
Tabla 4.4 Porcentaje de humedad del quitosano.....	45
Tabla 4.5 Porcentaje de cenizas del quitosano	45
Tabla 4.6 Resumen de resultados de obtención de quitina y quitosano.....	46
Tabla 4.7 Resumen de porcentaje de grupos aminos NH_2 para las mejores muestras según tamiz (porcentaje de pureza)	47
Tabla 4.8 Datos de titulación N-Acetilación con NaOH 0.1N Muestra N°1 Tamiz N° 60.....	47
Tabla 4.9 Datos de titulación N-Acetilación con NaOH 0.1N Muestra N°1 Tamiz 35.....	53
Tabla 4.10 Datos de titulación N-acetilación con NaOH 0.1N Muestra N°1 Tamiz18.....	58
Tabla 4.11 Humedad materia prima	63
Tabla 4.12 Cenizas materia prima	63
Tabla 4.13 Porcentaje de proteínas, grasas y carbohidratos de la materia prima.....	63
Tabla 4.14 Resultados mohos (UFC/g)	64
Tabla 4.15 Resultados Echericia Coli (Nmp/G)	64

Tabla 4.16	<i>Resultados Salmonella (ausencia/ 25g).....</i>	64
Tabla 4.17	<i>Diseño Unifactorial Variable Respuesta: porcentaje de pureza... </i>	65
Tabla 4.18	<i>ANOVA Pruebas de efectos inter-sujetos</i> <i>(Variable dependiente: Pureza).....</i>	65
Tabla 4.19	<i>Duncan^{a, b} Pureza.....</i>	66

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 2.1	<i>Estructura química de la quitina.....</i>	17
FIGURA 2.2	<i>Estructura química del quitosano.....</i>	17
FIGURA 2.3	<i>Estructura primaria de la quitina y el quitosano.....</i>	17
FIGURA 2.4	<i>Aplicaciones del quitosano.....</i>	20
FIGURA 3.1	<i>Langostino fresco.....</i>	31
FIGURA 3.2	<i>Exoesqueletos de langostino.....</i>	31
FIGURA 3.3	<i>Lavado de exoesqueletos</i>	31
FIGURA 3.4	<i>Molido de exoesqueletos</i>	31
FIGURA 3.5	<i>Tamizado de exoesqueletos.....</i>	32
FIGURA 3.6	<i>Producto obtenido desmineralización 1.....</i>	34
FIGURA 3.7	<i>Producto obtenido Desmineralización 2.....</i>	35
FIGURA 3.8	<i>Agitación desproteinización 1.....</i>	36
FIGURA 3.9	<i>Producto Obtenido Desproteinización 1.....</i>	36
FIGURA 3.10	<i>Proceso de filtrado desproteinización 2.....</i>	37
FIGURA 3.11	<i>Producto obtenido desproteinización 2 (quitina).....</i>	37
FIGURA 3.12	<i>Proceso de filtrado despigmentación con acetona.....</i>	38

FIGURA 3.13	<i>Producto obtenido despigmentación con acetona.....</i>	<i>38</i>
FIGURA 3.14	<i>Despigmentación con peróxido de hidrogeno.....</i>	<i>39</i>
FIGURA 3.15	<i>Producto obtenido despigmentación con peróxido de hidrogeno.....</i>	<i>39</i>
FIGURA 3.16	<i>Agregamos la quitina más 100 ml de NaOH</i>	<i>41</i>
FIGURA 3.17	<i>Equipo desacetilador, proceso realizado por 2 horas y media.....</i>	<i>41</i>
FIGURA 3.18	<i>Proceso de filtrado de desacetilacion.....</i>	<i>41</i>
FIGURA 3.19	<i>Obtención de quitosano.....</i>	<i>41</i>
FIGURA 4.1	<i>Grafica pH / Volumen muestra 1 tamiz 60</i>	<i>50</i>
FIGURA 4.2	<i>$d(pH/dV) / V_{promedio}$ primera derivada</i>	<i>51</i>
FIGURA 4.3	<i>$d(pH/dV) / V_{promedio}$ segunda derivada</i>	<i>52</i>
FIGURA 4.4	<i>Grafica pH / Volumen muestra 1 tamiz 35</i>	<i>55</i>
FIGURA 4.5	<i>$d(pH/dV) / V_{promedio}$ primera derivada</i>	<i>56</i>
FIGURA 4.6	<i>$d(pH/dV) / V_{promedio}$ Segunda derivada</i>	<i>57</i>
FIGURA 4.7	<i>Grafica pH / Volumen muestra 1 tamiz 18</i>	<i>60</i>
FIGURA 4.8	<i>$d(pH/dV) / V_{promedio}$ primera derivada</i>	<i>61</i>
FIGURA 4.9	<i>$(d(pH/dV) / V_{promedio})$ segunda derivada</i>	<i>62</i>
FIGURA 4.10	<i>Promedio de pureza de quitosano según número de tamiz.....</i>	<i>67</i>

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1	<i>Diseño Unifactorial (rendimiento).....</i>	75
ANEXO 2	<i>Análisis univariado de varianza (rendimiento).....</i>	75
ANEXO 3	<i>ANOVA (Pruebas de efectos inter-sujetos).....</i>	76
ANEXO 4	<i>Duncan^{a,b} (Rendimiento).....</i>	76
ANEXO 5	<i>Promedio de los mejores rendimientos según el número de tamiz</i>	77
ANEXO 6	<i>Muestras enviadas para Espectrofotometría</i>	78
ANEXO 7	<i>Muestras para el método de N- Acetilación</i>	79
ANEXO 8	<i>Ejemplo para obtener datos de N-Acetilacion</i>	80
ANEXO 9	<i>Formulas para obtener datos de N-Acetilación en programa Excel...</i>	80
ANEXO 10	<i>Formulas para determinar cenizas de quitosano.....</i>	82
ANEXO 11	<i>Formulas para determinar humedad de quitosano.</i>	83
ANEXO 12	<i>Formación de la película de quitosano.....</i>	84
ANEXO 13	<i>Número de tamices según u.s.a estándar testing sieve.....</i>	85
ANEXO 14	<i>Proceso de desproteinización.....</i>	86

INTRODUCCION

El quitosano es uno de los pocos polisacáridos catiónicos naturales. Se logra obtener quitosano luego que la quitina se somete al proceso de Desacetilación de la misma, en condiciones muy alcalinas y a altas temperaturas (Hosakawma y col., 1990; Pastor e Higuera, 2004; Rabea y col., 2003). Es un polímero biodegradable, no toxico, biocompatibe, semipermeable, con propiedades fimogenicas y antimicrobianas, lo que lo convierte en un material versátil y con gran potencial como empaque de alimentos (khan y col., 2000).

Los usos específicos del quitosano y derivados, los hacen útiles a nivel industrial: En la agricultura puede funcionar como inductor de mecanismos de defensa en las plantas y como recubrimiento de frutos postcosecha, en tratamiento de aguas residuales como agente floculante, en la industria alimenticia como aditivo, en cosméticos como agente hidratante y recientemente en farmacéutica como agente en biomedicina (Rabea et al., 2003; Synowiecki et al., 2003).

Además presenta la habilidad de ligar lípidos y metales como cobre, zinc, plomo, vanadio y hierro, y puede extender la vida de anaquel de productos alimenticios frescos y con alta actividad de agua como frutas, verduras y carnes (Jeon y col., 2002)

Este proyecto de investigación aún no se ha desarrollado en la ciudad de Piura de manera comercial lo que sería muy importante para nuestra región la obtención de quitosano para poder darle diferentes utilidades y no importar este producto el cual es muy importante para la región, este producto es utilizado como ayuda en el crecimiento de las plantas, también se emplea en la filtración y depurado de aguas y como pro-coagulante tópico en vendajes y agentes antihemorrágicos.

La producción de quitosano es un compuesto al que se le ha encontrado un gran número de aplicaciones en años recientes, es ya una realidad en países como Japón y Estados unidos. Por esto el aprovechamiento de los exoesqueletos de langostino para la producción de quitosano, resulta ser un campo de investigación muy importante. Esto se debe a que el polímero que se aísla a partir de ella, comúnmente denominada quitina, posee una particularidad catiónica que le permite aplicaciones especiales. Además la materia prima utilizada para su obtención es de bajo costo debido a que

generalmente es desperdicio de la industria pesquera o de las langostineras y empresas de la región.

En Perú la exportación de langostino es una actividad muy rentable que se caracteriza por su zona de producción de langostino de cultivo "*Penaeus vannamei*", que es la zona norte del país principalmente tumbes y hoy en día Piura que se ha incrementado la producción de langostino de cultivo.

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Ingeniería Pesquera del Departamento de pesquería de la UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA, en Perú bajo la dirección del Dr. Juan Quispe Neyra como asesor y como co-asesor el Ingeniero Hualter Leyton Masías del departamento de pesquera de la universidad nacional de Piura, quien nos ayudó con la facilidad de los reactivos para poder realizar el procedimiento para la obtención de quitosano.

I. ASPECTOS DE LA PROBLEMÁTICA

1.1 Descripción de la realidad problemática

La ciudad de Piura es nueva en la exportación de langostino, sabiendo que Tumbes es el departamento líder en exportación de langostino, en Piura existen muy pocas empresas que se dedican a la exportación de langostino la principal es la empresa ECOSAC S.A.C, la cual genera residuos de los exoesqueletos de langostino y no es aprovechado, por otra parte también lo desperdician los restaurantes y cevicheras del medio local.

En tumbes existen camaroneras ilegales que comercializan sus productos al mercado interno como es Piura, Chiclayo, Trujillo, Chimbote, Lima, etc. Estas camaroneras descabezan el langostino dejando estas cabezas para botar a la basura o quemarlas, estas langostineras cosechan de 1200 kilos de langostino por hectárea, las piscinas presentan en su mayoría 8 hectáreas, según entrevista a trabajador en la ciudad de Tumbes con el propietario de la langostinera.

En la ciudad de Piura existe mucha materia prima (exoesqueletos de langostinos), las cuales no son utilizados para generar un producto, las empresas solo se dedican a comercializar su producto no sabiendo o no dándose cuenta de la importancia que tiene los exoesqueletos de langostino, al comercializar sus productos optan por desechar las cascarras y cabezas de (exoesqueletos), esto ha motivado a realizar mi producto quitosano lo más pronto posible.

El problema es cada vez más preocupante debido a que cada año se estima mejorar y seguir creciendo con la producción de langostino de ambas regiones (Piura y tumbes) y es muy probable que los exoesqueletos de langostinos aun no sean aprovechados.

1.2 Justificación e importancia de la investigación

A través de este proyecto de tesis se le dio valor agregado a los exoesqueletos del langostino obteniendo un producto nuevo y de calidad para poder comercializarlo tanto al mercado interno como externo ya que en nuestra ciudad aún no se realiza la obtención de este producto.

Actualmente el consumo de crustáceos deja aproximadamente como desechos entre el 70 y 80%, considerados contaminantes, que están constituidos por vísceras y exoesqueleto, el langostino en nuestro país solo se utiliza para exportarlo, con buenas características de conservación, que se obtiene a partir de cabezas, abdomen o el camarón entero, según las características químicas del producto, Se obtiene quitosano a partir de exoesqueletos de langostino de cultivo (*Penaeus sp*) mediante un proceso de desproteínezación, desmineralización y desacetilación, que se realizara en Laboratorio de la facultad de pesquera de la universidad nacional de Piura, con el fin de proporcionar una alternativa de un nuevo producto dándole valor agregado a los residuos de las empresas, cevicherías, restaurantes y langostinerías informales ubicadas en la región Piura.

Los desechos pueden aprovecharse para la obtención de dos biopolímeros especializados de alto valor agregado a nivel mundial como lo es la quitina y su derivado funcional el quitosano. El quitosano es un producto que hoy en día está generando mucha demanda es mucha su utilización en el mundo es un producto que se puede utilizar en la agricultura, industria alimentaria, cosmética, farmacéutica, medicina, También se utiliza mucho para quemaduras.

Durante la última década, la producción mundial anual de quitina y quitosano purificados se estimó en alrededor de 1.600 toneladas. Estados Unidos y Japón son los principales productores. En menor escala, destacan India, Italia y Polonia. En la actualidad, aunque no existen datos confiables, la producción se aproxima a las 70 mil toneladas. Esta cantidad es

insuficiente para atender la creciente demanda mundial de quitosano como agente quelante y floculante.

Este proyecto es factible realizarlo ya que en nuestra ciudad se cuenta con los exoesqueletos que son desperdiciados por las empresas y cevicherías de tal modo se me hace más sencillo realizarlo para aprovechar estos desperdicios.

Importancia y beneficiarios de la investigación

La importancia del proyecto de tesis es porque es un producto nuevo y muy bien cotizado, el quitosano generará aportes en la región Piura si se logra llegar a un acuerdo con las empresas productoras de langostino, también las ayudaría a mejorar la parte económica, porque si se llega a un acuerdo se les pagaría por vendernos los exoesqueletos de langostino y también las ayudaría a mejorar en la parte de las jornadas de trabajo ya que al vendernos los exoesqueletos de langostino no les quedaría residuos, lo cual se aprovechara para la obtención de quitosano.

Creo que si Piura llega a comercializar quitosano motivaría a los demás estudiantes de todas las universidades a nivel regional y del Perú dando el ejemplo que se puede realizar un producto nuevo, que todos tenemos esa capacidad de aportar a la sociedad para bien.

Los beneficiarios de este proyecto serían las empresas productoras de langostino, la región Piura tanto por los aportes para el rehusó de exoesqueletos de langostino.

Por lo general los mejores beneficiarios serían las empresas que apuesten por el proyecto nuevo dado que se estima a trabajar con grandes cantidades de quitosano, por ende, generaría más ingresos.

El quitosano generaría nuevas oportunidades a muchas personas del Perú y del mundo debido a que es un producto que es utilizado en muchas áreas, los más principales serían:

Se puede utilizar con agente floculante, el problema del agua es cada vez una realidad este producto ayudaría a los tratamientos de agua, si nosotros lo producimos lo podemos aprovechar a un menor costo.

Nuestra región que su principal actividad es la agricultura, el quitosano ayuda a las plantas a protegerlas de plagas y enfermedades.

1.3 Objetivos

General

- Obtener quitosano a partir de exoesqueletos de langostino mediante el método de desacetilación.

Específicos

- Determinar los parámetros de la materia prima en porcentaje de humedad del exoesqueleto, número de malla del exoesqueleto secado y molido, TBVN (total de bases nitrogenadas volátiles) para la obtención de quitosano.
- Realizar el análisis microbiológico al producto obtenido.
- Evaluar y comparar de los parámetros, porcentaje de humedad y grado de pureza del quitosano.
- Analizar variantes de rendimiento al quitosano obtenido.

1.4 Delimitación de la investigación

- **Delimitación temporal:** La presente investigación se desarrolló en el laboratorio de microbiología de la facultad de Ingeniería pesquera de la universidad nacional de Piura El proyecto experimental tuvo una duración de tres meses, Comenzó el 01 de febrero al 01 de Mayo del 2018

II. MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION

En primer lugar, se tiene que en el año 2012, fue presentado por Ayelén A. Barra, Aníbal S. Romero y Dr. Juan B. Beltramino alumnos de la Escuela Agropecuaria Provincial N° 1 de Gobernador Gregores, Provincia de Santa Cruz, Argentina, el proyecto de obtención de quitosano. La realización del presente proyecto tuvo como objetivo principal recuperar y transformar los restos de crustáceos que son depositados y acumulados en las costas patagónicas con el fin de transformar el componente principal de los mismos, la quitina, en un producto de aplicación de alto valor agregado, el quitosano.

La realización del presente proyecto tuvo como objetivo principal recuperar y transformar los restos de crustáceos que son depositados y acumulados en las costas patagónicas con el fin de transformar el componente principal de los mismos, la quitina, en un producto de aplicación de alto valor agregado, el quitosano. La fuente y el método de obtención determinan la composición del quitosano, por este motivo, el grado de desacetilación es el principal parámetro de obligado conocimiento para la caracterización de este polímero. En este ensayo se trabaja con una técnica convencional sobre residuos sólidos de langostinos (*Pleoticus muelleri*) nombre científico. Los resultados del ensayo son alentadores ya que se obtuvo un quitosano con características compatibles para el uso industrial en el tratamiento de aguas residuales, y a un bajo costo.

Se pudo sacar el máximo provecho ya que pude comparar rendimientos y tiempos en los diversos métodos empleados esto me ayudo a obtener quitosano de buen rendimiento, cabe resaltar que el proyecto presentado por Ayelén A. Barra, Aníbal S. Romero y Dr. Juan B, indica que el quitosano obtenido lo enfoca a la parte de tratamiento de aguas residuales, por tal motivo su proyecto fue el más indicado para comparar rendimientos y tiempos.

Hernández (2009) reporta la extracción de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón desechados en restaurantes de comida marina. Se logró la desacetilación termo alcalina heterogénea de la quitina. El porcentaje de desacetilación del quitosano obtenido es de 64 %. Finalmente señala que los resultados de porcentaje de ceniza, humedad y materia insoluble demuestran que la pureza del quitosano obtenido es aceptable para el control ambiental.

Morey & Quinde (2012) Obtención de quitosano y su aplicación en recubrimientos comestibles en mezclas con almidón. En Guayaquil, El objetivo fue obtener quitosano, lo cual se consiguió a partir del exoesqueleto de cangrejo, a través de un tratamiento químico que incluyó la desmineralización, desproteínización y desacetilación, se caracterizó en función de su grado de desacetilación y peso promedio molecular viscosimétrico. Para analizar el efecto de los recubrimientos sobre un alimento, las soluciones se aplicaron sobre fresas y se observó los cambios de estas durante el almacenamiento, la solución mostró resultados para la preservación de la fruta.

Según la FAO (2008), en el Perú se cultiva la especie (*Litopenaeus vannamei*) crustáceo decápodo de la familia *Penaeidae*, nativo del oriente del Océano Pacífico, desde el estado de Sonora, México, hasta el noroeste del Perú., conocida como langostino blanco; aunque en el pasado también se cultivó, la especie *L. Stylirostris* , o langostino azul. Estas especies se distribuyen en las costas occidentales de América (Océano Pacífico), desde México hasta el norte del Perú (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. FAO).

El camarón blanco es nativo de la costa oriental del Océano Pacífico, desde Sonora, México al Norte, hacia Centro y Sudamérica hasta Tumbes en Perú, en aguas cuya temperatura es normalmente superior a 20 °C durante todo el año. *Penaeus vannamei* más conocido como langostino blanco del cual se obtuvieron las muestras para el proyecto se encuentra en hábitats marinos tropicales. Los adultos viven y se reproducen en mar abierto, mientras que la postlarva migra a las costas a pasar la etapa juvenil, la etapa adolescente y pre

adulta en estuarios, lagunas costeras y manglares. Los machos maduran a partir de los 20 g y las hembras a partir de los 28 g en una edad de entre 6 y 7 meses. Cuando *P. vannamei* pesa entre 30 y 45 g libera entre 100 000 y 250 000 huevos de aproximadamente 0,22 mm de diámetro. La incubación ocurre aproximadamente 16 horas después del desove y la fertilización. En la primera etapa, la larva, denominada nauplio, nada intermitentemente y es fototáctica positiva. Los nauplios no requieren alimentación, sino que se nutren de su reserva embrionaria. Las siguientes etapas larvarias (protozoa, mysis y postlarva temprana respectivamente) continúan siendo planctónicas por algún tiempo, se alimentan del fitoplancton y del zooplancton, y son transportados a la costa por las corrientes mareales. Las postlarvas (PL) cambian sus hábitos planctónicos unos 5 días después de su metamorfosis a PL, se trasladan a la costa y empiezan a alimentarse de detritos bénticos, gusanos, bivalvos y crustáceos. (Estadísticas Pesqueras de la FAO, 2006)

2.2 BASES TEORICAS

La población mundial ha llegado a una era en la cual depende cada vez más de productos cultivados como fuente de alimentos como el camarón de cultivo, y menos de las poblaciones silvestres; los camarones son crustáceos decápodos nadadores que habitan en agua dulce y en mayor diversidad en el medio marino. El cuerpo está protegido por un exoesqueleto que debe mudar a medida que crece. Los camarones del género *Penaeus* presentan un enorme potencial de cultivo, motivo por el cual han recibido la mayor atención en cuanto a experiencias de cultivo e investigación científica, siendo por ello los principales crustáceos cultivados en el mundo. Debido al desarrollo alcanzado, en la actualidad son más de 25 las especies de camarones del género *Penaeus* las cultivadas. (Abraham Pastor de, 2004)

En Perú, la cadena de camarón de cultivo, compuesta por los eslabones de laboratorios de maduración y de larvicultura, las granjas de cultivo, y las empresas procesadoras y comercializadoras, se han consolidado, en menos de 25 años, en el primer sector acuícola organizado con una fuerte vocación para la comercialización de sus distintos productos hacia los mercados internacionales. Perú hace exportaciones de camarón, principalmente a Estados Unidos, las cuales pasaron de 2000 TM en el 2003 a 3167 TM en el 2004, mostrando un incremento del 58,35% . En segundo lugar, esta España, posteriormente Francia.

La principal región productora de langostinos es Tumbes (80.3% de participación del total). Sin embargo, se observa que Piura mejora poco a poco su participación, informó la Asociación de Exportadores (ADEX)

La especie cultivada en el Perú es el *Penaeus vannamei* nombre científico del langostino blanco. Dicha especie es producida principalmente en América, destacando Ecuador, México, Brasil, Colombia y Venezuela como importantes productores. En su forma silvestre, el langostino *Penaeus vannamei* se distribuye desde el extremo norte del Golfo de California (México) hasta Tumbes (Perú).

Entre las moléculas poliméricas más abundantes en la naturaleza se halla la quitina, que es un componente de los exoesqueletos de invertebrados y las paredes celulares de algunos hongos y algas. La quitina se produce por biosíntesis en los organismos ante indicadores y presenta una tasa de reposición tan alta en la biosfera que se estima duplica a la de la celulosa.

Los desechos de crustáceos producidos por la industria pesquera son la materia prima para la industrialización de la quitina. El procedimiento para obtenerla consiste en aislarla de proteínas, minerales, generalmente calcáreos y pigmentos. Las etapas de este procedimiento se denominan procesos de desproteinización y desmineralización. El quitosano, principal derivado de la quitina, se obtiene industrialmente mediante un tratamiento de desacetilación. Dependiendo de las condiciones de reacción, se obtiene quitosano de diferente peso molecular y grado de desacetilación. Estas variables los hacen útiles para diversas aplicaciones.

En la naturaleza existen polisacáridos de estructuras y formas diferentes que funcionan como materiales estructurales o proveedores de agua y energía, éste tipo de polisacáridos naturales se denominan biopolímeros, pueden ser usados como: adhesivos, absorbentes, lubricantes, cosméticos, como aditivos en el área farmacéutica, materiales estructurales, etc., el uso de varios de estos materiales se encuentra todavía en desarrollo aunque ya se tienen conocimientos de importantes aplicaciones en alimentos y en medicina. Entre los biopolímeros más concurrentes se encuentran la celulosa y la quitina, considerados los compuestos orgánicos más abundantes sobre la tierra, el primero refuerza la pared celular de plantas mientras que el segundo contribuye como el exoesqueleto de artrópodos y la fuerza mecánica de la pared celular de hongos y el exoesqueleto de artrópodos (Gooday et al., 1992; Kurita et al., 2006).

El quitosano es derivado de la quitina por desacetilación en presencia de una base alcalina. Es un copolímero que consiste de unidades β -(1-4)-2-acetamido-glucosa y β -(1-4) -2-amino – glucosa, siendo el ultimo más del 80% por lo general.

Según la FAO (citada en Díaz, 2008) comenta que los camarones marinos Peneidos que son objeto de cultivo, poseen un cuerpo alargado y cubierto por un exoesqueleto o caparazón de consistencia quitinosa, con sales calcáreas. El cuerpo se encuentra dividido en dos partes: cabeza o cefalotórax y abdomen o cola. El cefalotórax (perión) este contiene un apéndice fino y dentado llamado rostro, que varía en forma y número de dientes según la especie, contiene además apéndices masticadores, anténulas, ojos, etc. Interiormente se encuentra el aparato digestivo, hepatopáncreas, branquias gónoras; exteriormente se observa 5 pares de patas que le sirven para caminar y se llaman ambulacrales, caminadoras o periópodos.

2.3 GLOSARIO DE TERMINOS BASICOS

Exoesqueletos: Es el esqueleto externo continuo que recubre, protege y soporta el cuerpo de un animal, hongo o protista. Un exoesqueleto o dermoesqueleto recubre toda la superficie, de todos los animales del filo artrópodos (arácnidos, insectos, crustáceos, miriápodos y otros grupos relacionados), donde cumple una función protectora, de respiración y otra mecánica, proporcionando el sostén necesario para la eficacia del aparato muscular.

Tamizado: Cualquier estudio sobre el comportamiento del equipo de separación por tamaños, o el de machacado y molido, implica la determinación de la cantidad de material de diferentes tamaños que hay presente. El único método general y práctico para ello, es determinar la fracción de la muestra que pasa a través de un tamiza con una apertura de mallas dada.

Consiste en pasar el material, de modo sucesivo, por una serie de tamices o cedazos que poseen orificios o mallas progresivamente decrecientes. El material que pasó a través de un tamiz y ha sido retenido por otro, porque sus orificios son de menor tamaño que el anterior, suele considerarse como de tamaño igual a la medida aritmética de las aberturas de ambos tamices. A este valor representa el tamaño medio o diámetro medio, y se representa por el símbolo D_m .

Deproteinización. El procedimiento más comúnmente utilizado para desproteinizar consiste en tratar los caparazones de los crustáceos con una solución acuosa diluida de NaOH a temperatura más bien alta (65–100°C), con el fin de disolver la proteína. El tiempo de tratamiento suele variar entre 0,5 y 72 horas. En ocasiones se prefiere realizar dos tratamientos consecutivos por tiempos cortos. Hay que tener en cuenta que tratamientos por largo tiempo o a temperaturas muy altas pueden provocar ruptura de las cadenas y la desacetilación parcial del polímero. También se han utilizado otros agentes para extraer la proteína, entre los cuales se mencionan los siguientes: Na_2CO_3 , NaHCO_3 , KOH, K_2CO_3 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, Na_2SO_3 , NaHSO_3 , Na_3PO_4 y Na_2S . Los procesos de desproteinización usando extractos enzimáticos o enzimas aisladas y

fermentaciones microbiológicas se han probado con relativo éxito, pero la alternativa del tratamiento enzimático/microbiológico, además de consumir largo tiempo, suele dejar de 1–7% de proteína residual. (Colina Marinela, Agosto 28, 2015).

Desmineralización. El principal componente inorgánico de los caparazones de los crustáceos es el CaCO_3 , el cual se suele eliminar empleando soluciones diluidas de HCl (hasta 10%) a temperatura ambiente, aunque también se han utilizado otros ácidos (HNO_3 , HCOOH , HNO_3 , H_2SO_4 , y CH_3COOH). La concentración del ácido y el tiempo de tratamiento dependen de la fuente, pero deben evitarse los tratamientos a temperaturas más altas, que provocan la degradación del polímero. Un tratamiento alternativo para disminuir la degradación consiste en el empleo del agente acomplejante EDTA (ácido etilendiaminotetracético). (Colina Marinela, Agosto 28, 2015).

Despigmentación: La coloración de los caparazones de crustáceos se debe fundamentalmente a la presencia de pigmentos tales como la astaxantina, la cantaxantina, el astaceno, la luteína y el caroteno (β – Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 15, Enero de 2014 Colina et als. Obtención de Quitina y Quitosano 26 Rev. Iberoam. Polim., 15, 21-43 (2014)). Los tratamientos anteriores generalmente no son capaces de eliminar estos pigmentos, los que suelen extraerse a temperatura ambiente con acetona, cloroformo, éter, etanol, acetato de etilo o mezcla de disolventes. También se han empleado agentes oxidantes tradicionales, como el H_2O_2 (0,5–3%) y el NaClO (0,32%), aunque debe tenerse presente que éstos suelen atacar los grupos aminos libres e introducir modificaciones en el polímero. En caparazones fuertemente coloreados, como el de la langosta común, se ha reportado la utilización exitosa de tratamientos con mezclas de acetona y NaOCl a temperatura ambiente. (Colina Marinela, Aug 28, 2015).

La desacetilación: La desacetilación de la quitina se lleva a cabo por hidrólisis de los grupos acetamida en medio fuertemente alcalino, a altas temperaturas. Generalmente la reacción se realiza en fase heterogénea empleando soluciones concentradas de NaOH o KOH (30–50%) a temperaturas superiores a 100°C , preferiblemente en atmósfera inerte o en presencia de sustancias reductoras como el NaBH_4 o el Na_2SO_3

para evitar la despolimerización del polímero. Las condiciones específicas de la reacción dependerán de diversos factores, tales como el material de partida, el tratamiento previo, y el grado de desacetilación deseado. No obstante, con un solo tratamiento alcalino, el máximo grado de desacetilación alcanzado no suele sobrepasar del 75 al 85%. Tratamientos prolongados suelen provocar la degradación del polímero sin traducirse en un aumento sensible del grado de desacetilación. Al igual que la celulosa, la quitina es un polímero semicristalino, de manera que cuando la desacetilación se realiza en fase heterogénea la reacción tiene lugar fundamentalmente en las regiones amorfas. La reacción en condiciones homogéneas permite una modificación más uniforme del polímero, y se realiza sobre álcali quitina. La misma se obtiene sometiendo una suspensión alcalina de quitina a tratamientos de congelación–descongelación hasta producir una solución acuosa de quitina en hidróxido de sodio. La desacetilación homogénea se lleva a cabo a concentraciones de álcali más moderadas (alrededor del 30%), a 25–40°C por tiempos de 12 a 24 horas. Se ha podido demostrar que mientras que las quitosanas obtenidas en el proceso heterogéneo presentan polidispersidad en cuanto al grado de acetilación de sus cadenas, las obtenidas por vía homogénea tienen toda la misma composición. En este trabajo se hace una evaluación de los diferentes parámetros para la obtención química de quitina y quitosano a partir de los desechos de cangrejo. (Colina Marinela, Agosto 28, 2015).

2.4 MARCO REFERENCIAL

2.4.1 La Quitina

La quitina fue aislada por primera vez en el año 1811, por el químico Francés Henri Braconnot, estudiando los derivados del *Agaricus Volva Reus* y otros hongos, denominándolo inicialmente como fungina; en 1823. Odier en un trabajo con insectos se encontró un tipo de sustancia similar a un componente estructural de las plantas (similar a la celulosa); esta nueva sustancia la denominó “quitina”, una palabra derivada del griego la cual significa túnica o cobertura, diferenciándola de la celulosa por la presencia de nitrógeno en su estructura molecular. La estructura de la quitina está constituida por unidades de 2-

acetamido-2desoxi- 2-D-glucosa, y denominada un biopolímero (poli- β -N-acetil-glucosa mina), (figura 1). Esta es conocida en la naturaleza desde hace millones de años, y se le ha asignado una edad de al menos 570 millones de años, al haber sido encontrada en el exoesqueleto de artrópodos acuáticos fósiles conocidos como trilobites, que datan de la era paleozoica; es considerada como el segundo polisacárido de mayor abundancia en la naturaleza, su estructura molecular posee excelentes propiedades mecánicas que permiten la formación de fibras y películas biodegradables.

La quitina es blanca, dura, inelástica, que se encuentra en el exoesqueleto de animales, así como en la estructura internas de algunos invertebrados.

2.4.2 Definición

La quitina es el segundo biopolímero más abundante en la tierra después de la celulosa y se encuentra en fuentes como el exoesqueleto de los crustáceos, en la pared celular de los hongos y en otros recursos biológicos variados. (Andrady, 2011).

La quitina y su principal derivado el quitosano son considerados como polímeros biofuncionales con amplia aplicación en el área de la biotecnológica, ya que además de ser recursos abundantes y renovables, también presentan diversas propiedades que incluyen: la biodegradabilidad y biocompatibilidad (Felse et al, 1999).

2.4.3 Propiedades

Dependiendo del estado ya sea sólido o en solución, la quitina y el quitosano presentan diferentes propiedades, en el estado sólido las propiedades dependen de la accesibilidad y la movilidad de las cadenas del polímero, parámetros relacionados con la cristalinidad y morfología. En solución, las propiedades dependen de los parámetros de solubilidad y conformación de la cadena (Domard, 1998).

2.4.4 Estructura química

La estructura de la quitina presenta similitud con la de la celulosa, la diferencia entre ellas se encuentra en que el carbono 2 contiene un grupo hidroxilo en la celulosa y un grupo acetamida en la quitina. Ambos biopolímeros cumplen roles semejantes: actúan como materiales de soporte y defensa de los organismos que los contienen.

La quitina poli [β (1-4)-2-acetamida-2-desoxi-D-glucopiranos], es el componente orgánico más abundante en la estructura esquelética de muchas de las clases que conforman el grupo de los invertebrados. Por ser un producto natural, no podemos esperar una composición única. Debe entenderse por esto que las diferentes moléculas del polímero presentan variabilidad entre ellas. La variabilidad abarca su longitud, el porcentaje de grupos amino-acetilos y la posición de estos a lo largo de la cadena.

Los nombres quitina y quitosano son ampliamente usados en la literatura, pero ninguno de ellos representa una estructura química única. Podemos definir como quitina nativa al polímero contenido en los exoesqueletos de los crustáceos insectos y paredes celulares de ciertos hongos; el término quitina se refiere al biopolímero aislado de su matriz original. (MATSUMOTO, Keiko.; Producción de quitina y quitosano, nuevo proceso biotecnológico para la obtención de quitina y quitosano, Universidad Autónoma Metropolitana, 2011. 12)

Tanto la quitina como el quitosano son copolímeros lineales de residuos de Nglucosamina(D-GlcN) y N- Acetil glucosamina (D-GlcNAc) distribuidos al azar y unidos mediante un enlace β -1,4 que produce una estructura rígida no ramificada

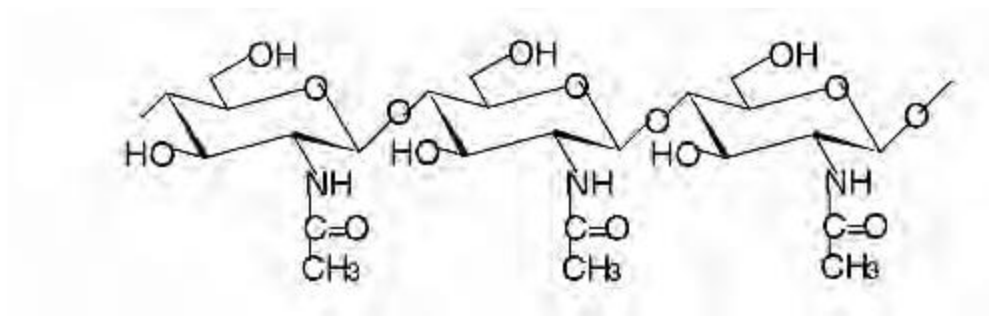


Figura 2.1 Estructura química de la quitina

Fuente: (Tervojevick et al., 1988; Domard, 1998).

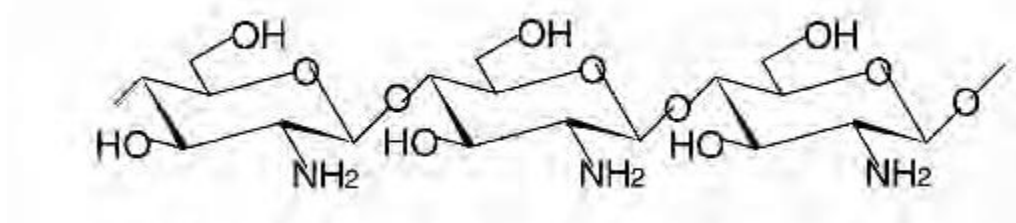


Figura 2.1 Estructura del Quitosano

Fuente: (Tervojevick et al, 1988; Domard, 1998).

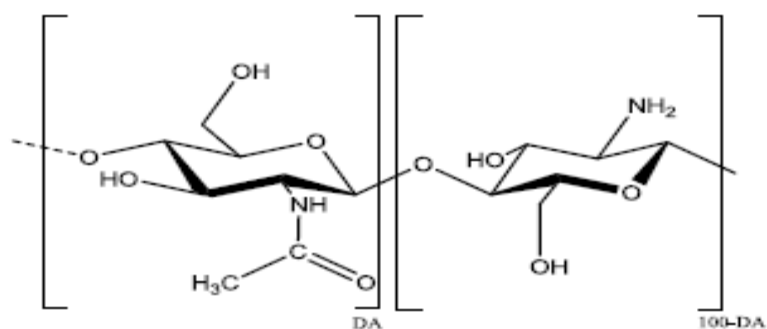


Figura 2.2 Estructura primaria de la quitina y el quitosano

Fuente: recuperado de tesis (extracción biotecnológica de quitina para la producción de quitosanos: caracterización y aplicación), presentada por Neith Aracely Pacheco López.

Hasta ahora no existe una nomenclatura oficial para diferenciar a la quitina del quitosano, algunos autores establecen la diferencia en función del porcentaje de grupos acetilados en la molécula (grado de acetilación DA), de esta forma el quitosano se define como un copolímero de unidades de repetición D-GlcN y DGlcNAc soluble en soluciones acuosas ligeramente ácidas, mientras que la quitina, solo es soluble en soluciones de dimetilacetamida (DMAc) o N-metilpirolidona (NMP) conteniendo del 5 al 7 % de cloruro de litio. La frontera entre los dos biopolímeros se encuentra alrededor de un DA del 50%, no obstante la condición de solubilidad del quitosano se satisface en la mayoría de los casos a valores de $DA < 40\%$ de la repetición estadística de residuos. (Tervojevick et al., 1988; Domard, 1998).

2.4.5 Solubilidad

La quitina es insoluble en agua y en la mayoría de los disolventes. Para llevar a cabo la disolución de ésta molécula, es necesario introducir disolventes que induzcan las repulsiones entre las cadenas o desequilibren los puentes de hidrógeno intermoleculares presentes en el estado sólido. Los disolventes que pueden cumplir con este propósito son la hexafluoroacetona y la N,N-dimetilacetamida (DMAc) conteniendo 5-8 % LiCl (Rutherford and Austin, 1978). Recientemente, el metanol saturado con el cloruro de calcio dihidratado ha sido reportado como nuevo disolvente de la quitina utilizado anteriormente como disolvente para nylons (Tamura et al, 2004).

El quitosano es insoluble en disolventes orgánicos puros, pero soluble en ácidos acuosos debido a la presencia de grupos amino libres que al ser protonados generan repulsiones en la cadena promoviendo la solubilización. Algunos ácidos orgánicos como el fórmico, acético, láctico, pirúvico y ácidos oxálicos con frecuencia son usados para su disolución. Ácidos minerales como ácidos hidroc্লóricos y nítricos también solubilizan al quitosano, sin embargo el ácido sulfúrico no es conveniente debido a las atracciones iónicas entre la cadena producida por el anión divalente del sulfato (Domard, 1998).

El MW de la quitina natural es mayor a $1000 \times 10^3 \text{ g.mol}^{-1}$ y el del quitosano comercial se encuentra entre 100 y $500 \times 10^3 \text{ g.mol}^{-1}$ dependiendo de la quitina de origen. Distintos factores durante la extracción de la quitina y la preparación del quitosano pueden influenciar en el MW del biopolímero final. Altas temperaturas y concentraciones de ácidos y álcalis así como largos tiempos de reacción, pueden degradar y ocasionar depolimerización de las cadenas (Shahidi et al, 2005). Diferentes autores han observado que el MW del quitosano tiene una influencia en su actividad biológica (Shahidi et al, 1999; Rabea et al, 2003).

2.4.6 Aplicaciones

Las propiedades específicas de la quitina, el quitosano y derivados, los hacen útiles.

A nivel industrial: En la agricultura puede funcionar como inductor de mecanismos de defensa en las plantas y como recubrimiento de frutos postcosecha, en tratamiento de aguas residuales como agente floculante, en la industria alimenticia como aditivo, en cosméticos como agente hidratante y recientemente en farmacéutica como agente en biomedicina (Rabea et al, 2003; Synowiecki et al, 2003). El quitosano al ser el único biopolímero catiónico presenta diferentes aplicaciones, en soluciones como gel, formación de recubrimientos y fibras. En la figura N° 4, se muestran algunas de las aplicaciones del quitosano con base al área de aplicación.

La quitina presenta una baja toxicidad, es inerte en el tracto intestinal de mamíferos, es biodegradable debido a la presencia de quitinasas distribuidas ampliamente en la naturaleza en bacterias, hongos y plantas, así como en el sistema digestivo de diversos animales, la quitina se ha usado para preparar columnas de cromatografía por afinidad, para inmovilización de enzimas como absorbente de compuestos contaminantes como complejos de tioufato de plata como fibras en farmacéutica, (Kumar et al, 2000, Rinaudo, 2006).

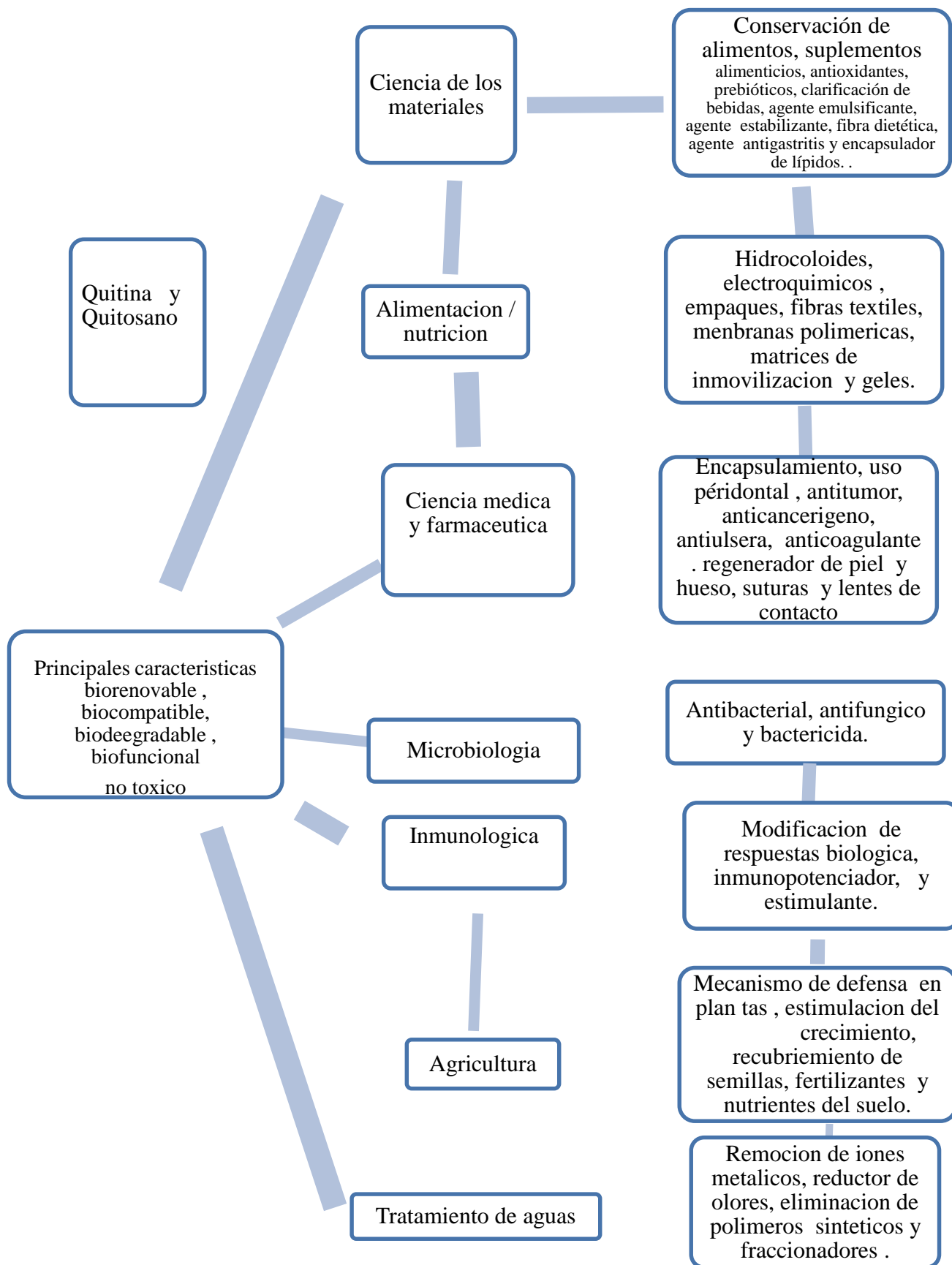


Figura 2.4 Aplicaciones del quitosano

Fuente: Aplicaciones de la quitina y el quitosano de acuerdo al área (Synowiecki et al, 2003; Rinaudo 2006; prashanth and tharanathan 2007)

2.4.7 Langostino

El langostino es un crustáceo decápodo de tamaño variable. Su cuerpo es algo encorvado y está dividido en dos partes: cefalotórax y abdomen, comercialmente conocidos como cabeza y cola, respectivamente. Es excepcionalmente nutritivo y solo la cola del animal es comestible; lo restante, cáscaras, gónadas y hepatopáncreas, es desechado en basureros municipales, convirtiéndose en una fuente de contaminación, ocasionando serios problemas ecológicos debido a su fácil descomposición bacteriana. Es por esto que existe la necesidad de encontrar alternativas que permitan reutilizar estos residuos para generar productos de valor comercial y disminuir la contaminación ambiental. En el Perú en general, parte de los desechos provenientes de la actividad langostera no tienen ningún tipo de aprovechamiento; en la región Piura existe una empresa exportadora de langostino “ecosac” la cual exporta langostino pelado y desaprovecha la oportunidad de desprimarizar la actividad, ya que se puede incorporar mayor valor agregado al obtener productos tales como quitina, pigmentos (entre ellos la astaxantina) y otras sustancias ricas en valor nutritivo. Una alternativa viable para la utilización de los residuos de Langostino es la fermentación láctica, de la que se obtienen tres bioproductos principales: una fase sólida (Quitina), una fase líquida (proteínas, minerales y aminoácidos libres) y una fase lipídica (lípidos y astaxantina). El uso de los pigmentos en la industria es muy amplio y los mercados potenciales para el producto de interés están localizados en la acuicultura, específicamente para el cultivo de artemia, tilapia y salmónidos, que requieren para su dieta un alto porcentaje de astaxantina. Además, en la industria farmacéutica se puede utilizar como marcador celular y como antioxidante, y en la industria cosmética como un agente colorante.

2.4.8 Tamiz

Los tamices son de la mejor fabricación y cumplen con todas las especificaciones. Los marcos están hechos de latón y se extraen de una sola pieza sin costura. Fondos extendidos (faldas) también son transparentes y se combinan para adaptarse a todos los marcos, sartenes o bandejas separadoras del mismo diámetro para un apilamiento conveniente. La tela es soldada a mano en el marco, la falda del marco, luego girada sobre la tela, y el círculo de contacto entre la tela y el marco se rellena suavemente con suelde para que no se pierda material entre la tela y el marco. La placa de identificación muestra el tamiz número, micras y aberturas nominales (en milímetros y pulgadas).

Los tamices cumplen con las siguientes especificaciones: NBS, ATSM-E-11, AN SZ23.1, AASHTO-M92, FS RRS-366B, CRD-C102, y todas las actuales enmiendas U.S.A. Los tamices estándar están almacenados en altura completa y media, 8 "diámetro. 3 ", 5", 6 ", 10", 12 "y otros diámetros disponibles por pedido. Malla de acero inoxidable también está disponible.

Especificaciones para U.S.A. Tamices de prueba estándar ASTM-E-11

Tabla 2.1 *Especificaciones de numero de tamices*

Specifications for U.S.A Estándar Testing Sieves ASTM-E-11						
Sieve Number or Size	USBS Sieve ASTM Designation					
	Milimeters or Microns	Sieve opening		Nominal Wire Diameter		
		Milimeters	inches	Milimeters	inches	
4"	100 mm	100	4.00	6.30	0.2480	
3- 1/2"	90 mm	90	3.50	6.08	0.2394	
3"	75 mm	75	3.00	5.80	0.2283	
2- 1/2"	63 mm	63	2.50	5.50	0.2165	
2"	50 mm	50	2.00	5.05	0.1988	
1 -3/4"	45 mm	45	1.75	4.85	0.1909	
1- 1/2"	37.5 mm	37.5	1.50	4.59	0.1807	
1- 1/4"	31.5 mm	31.5	1.25	4.23	0.1665	
1"	25.0 mm	25	1.00	3.80	0.1496	
7/8"	22.4 mm	22.4	0.875	3.50	0.1378	
3/4"	19.0 mm	19.0	0.750	3.30	0.1299	
5/8"	16.0 mm	16.0	0.625	3.00	0.1181	
#6	3.35 mm	3.35	0.132	1.23	0.0484	
#7	2.80mm	2.80	0.111	1.10	0.0430	
#8	2.36mm	2.36	0.0937	1.00	0.0394	
#10	2.00mm	2.00	0.0787	0.90	0.0354	
#12	1.70mm	1.70	0.0661	0.81	0.0319	
#14	1.40mm	1.40	0.0555	0.73	0.0285	
#16	1.18mm	1.18	0.0469	0.65	0.0256	
#18	1.00mm	1.00	0.0394	0.58	0.0228	
#20	850 micron	0.850	0.0331	0.51	0.0201	
#25	710 micron	0.710	0.0278	0.45	0.0177	
#30	600 micron	0.600	0.0234	0.39	0.0154	
#35	500 micron	0.500	0.0197	0.40	0.0134	
#40	425 micron	0.425	0.0165	0.29	0.0114	
#45	355 micron	0.355	0.0139	0.25	0.0097	
#50	300 micron	0.300	0.0117	0.22	0.0085	

Specifications for U.S.A Standard Testing Sieves
ASTM-E-11

Sieve Number or Size	USBS Sieve ASTM Designation				
	Milimeters or Microns	Sieve opening		Nominal Wire Diameter	
		Milimeters	inches	Milimeters	inches
#60	250 micron	0.250	0.0098	0.18	0.0071
#70	212 micron	0.212	0.0083	0.15	0.0060
#80	180 micron	0.180	0.0070	0.13	0.0052
#100	150 micron	0.150	0.0059	0.11	0.0043

Fuente: U.S.A. Standard Testing Sieves

2.5 Hipótesis

HIPOTESIS GENERAL

- ✓ Se realiza correctamente el método de desacetilación, se obtuvo quitosano de buena calidad a través de exoesqueletos de langostinos.

HIPOTESIS ESPECÍFICAS

- ✓ Manejamos los parámetros óptimos, porcentaje de humedad del exoesqueleto, número de malla del exoesqueleto seco y molido, TBVN (total de bases nitrogenadas volátiles) se obtuvo un buen rendimiento de quitosano.
- ✓ Realizamos correctamente el método de desacetilación, se obtuvo el producto y se determinó el análisis microbiológico.
- ✓ Obtenido el quitosano se evaluó los parámetros, porcentaje de humedad y grado de pureza del quitosano, con los convencionales.
- ✓ Combinamos los parámetros óptimos de la materia prima con el método de desacetilación se pudo determinar el mejor rendimiento de quitosano.

III MARCO METODOLÓGICO

3.1 Enfoque y Diseño

Según la intervención del investigador: se llevó a cabo una investigación **experimental y descriptiva**, ya que los análisis fueron bajo métodos controlados con mediciones de causa-efecto.

Para la presente investigación se utilizó el diseño experimental: **diseño unifactorial**.

En la siguiente **Tabla 3.1** se aprecia el diseño unifactorial el cual consta de 15 tratamientos, sabiendo también que son cinco muestras y tres tipos de tamiz.

Tabla 3.1 Diseño Unifactorial Variable Respuesta: porcentaje de pureza

Numero de muestras / Numero de tamices	1	2	3	4	5
18	T1	T2	T3	T4	T5
35	T6	T7	T8	T9	T10
60	T11	T12	T13	T14	T15

Fuente: *Elaboración Propia*

Tabla 3.2 *Análisis univariado de varianza*

Factores inter-sujetos		N
TAMIZ	18,000	5
	35,000	5
	60,000	5

Fuente: *Elaboración Propia*

3.2 Sujetos de la Investigación

3.2.1. Universo

En el proyecto se aplicó el muestreo no probabilístico, ya que la población a utilizar es demasiado grande para realizar un análisis probabilístico como es nuestro caso la población de exoesqueletos de langostinos de cultivo.

La gran variedad de langostinos.

3.2.2 Población

Langostino De Cultivo “*Penaeus vannamei*”, es la variedad que se utilizó para realizar nuestro proyecto teniendo en cuenta que la cantidad de la población es muy extensa.

3.2.3 Muestra

La cantidad de exoesqueletos de langostinos a utilizar depende de la cantidad de repeticiones a realizar hasta obtener un buen resultado de nuestro producto.

Según norma técnica peruana NTP 700.002 2012 hace referencia que se debe trabajar con un tamaño de muestra de 5 y cada muestra de 250 gr (como mínimo).

Tamaño de muestra $n= 5$

3.3 Métodos y Procedimientos

3.3.1 Métodos

Determinación de Cenizas:

Método de Cenizas totales: Las cenizas de los productos alimentarios están constituidas por el residuo inorgánico que queda después de que la materia orgánica se ha quemado. Las cenizas obtenidas no tienen necesariamente la misma composición que la materia mineral presente en el alimento original, ya que puede haber habido pérdidas por volatilización o alguna interacción entre los constituyentes. Las condiciones de ignición son especificadas para diversos materiales en una Norma Británica (BS 4603:1970).

Determinación de humedad:

Método de secado de estufa: La determinación de secado en estufa se basa en la pérdida de peso de la muestra por vaporación del agua. Para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles. El principio operacional del método de determinación de humedad utilizando estufa y balanza analítica, incluye la preparación de la muestra, pesado, secado, enfriado y pesado nuevamente de la muestra. (Nollet, 1996).

Métodos para Análisis Microbiológicos:

Métodos de ensayo realizados en el laboratorio de la facultad de Ingeniería pesquera.

- **Mohos:** ICMSF Método 1, Pág. 166-167, 2da Ed., Reimpresión 2000
- **Escherichia coli** : ISO 9308-1 Chromocult®.
- **Salmonella sp.:** ICMSF Pág. 172-176 Ítem 10: (a) y (c), 177 II - 178 III, 2da Ed. Reimpresión 2000

Métodos químicos

Desacetilacion: En este trabajo se llevó a cabo una comparación entre las determinaciones de grado de desacetilación de diferentes muestras de quitosano usando los métodos tradicionales de FTIR y titulación potencio métrica con un método relativamente nuevo, espectroscopia Raman. Esta última, se propone como una técnica rápida, sencilla y que no requiere preparación previa de la muestra. Los valores obtenidos se compararán en algunos casos con respecto a los obtenidos mediante RMN (el cual es el método aceptado como el más preciso en la obtención del grado de desacetilación de quitosano (Fernandez-Megia et al., 2005)) y en otros con los datos ofrecidos por el fabricante.

Debido a la gran influencia que tiene el grado de desacetilación prácticamente en todas las aplicaciones de la quitosano es de importancia prioritaria determinar este parámetro de una forma sencilla, rápida y precisa. Existen también a la fecha una gran cantidad de métodos reportados para estimar el DD de quitosana, entre otros se conocen: titulación potenciométrica (Jiang, Chen, & Zhong, 2003), espectrofotometría UV-Vis (Wu & Zivanovic, 2008), resonancia magnética nuclear (RMN) (Fernandez-Megia, Novoa-Carballal, Quiñoá, & Riguera, 2005), espectroscopia de infrarrojo (FTIR) (Brugnerotto et al., 2001) y recientemente espectroscopia Raman (Zajac, Hanuza, Wandas, & Dyminska, 2015).

3.3.2 Procedimiento

La quitina, precursor del quitosano, fue obtenida utilizando el método químico de desacetilación a partir de exoesqueletos de camarón obtenidos en el terminal pesquero José Olaya de Piura (Figura 3.1).

Los exoesqueletos obtenidos, fueron secados a temperatura ambiente expuestos al sol por 5 horas en bandejas.

Los exoesqueletos deshidratados y libres de cabeza, patas y cola (secados) se sometieron a un proceso de triturado, en un molino artesanal y luego en el triturador de laboratorio (Figura 3.4)

Los componentes de quitosano son descritos en términos del grado de acetilación, el peso molecular, la viscosidad y la solubilidad. La importancia de este biopolímero está en sus propiedades antimicrobianas en conjunto con sus propiedades para formar películas. (Fernández-Saiz et al, 2009, Muzzarelli, 2000).

Tabla 3.3 Rendimientos de exoesqueletos respecto al langostino fresco

LANGOSTINO FRESCO	CASCARA
1.25 Kg	250 gr
18.75 Kg	3750 gr

Fuente: Elaboración Propia

Se procedió a obtener langostino fresco en el terminal pesquero de Piura José Olaya (Figura 3.1), luego se procedió a pelar y descabezar el langostino obteniendo exoesqueletos de langostinos (Figura 3.3).



FIGURA 3.1 *Langostino fresco*



FIGURA 3.2 *Exoesqueletos de langostino*

Los exoesqueletos de langostino fueron lavados, secados y triturados o molidos



FIGURA 3.3 *Lavado de exoesqueletos*



FIGURA 3.4 *Molido de exoesqueletos*

Posteriormente se realiza el proceso de tamizado obteniendo tres números de tamiz: N° 18, 35 y 60, que son nuestras tres variables de tamiz para nuestro proyecto, se especifica mejor en **Tabla 3.4** según U.S.A Standard Testing Sieve.

Tabla 3.4 *Tamaño de partícula según número de tamiz*

N° DE MALLA	MEDIDA(um)	MEDIDA(cm)
18	1000	0.1
35	500	0.05
60	250	0.025

Fuente: U.S.A Standard Testing Sieve



FIGURA 3.5 *Tamizado de exoesqueletos*

Posteriormente se procede a pesar 250 gr de exoesqueletos para cada tratamiento teniendo en cuenta que son 15 tratamientos y poder obtener nuestros resultados del diseño experimental respecto al porcentaje de pureza del quitosano.

Tabla 3.5 Diseño *experimental*

Numero de muestras /	1	2	3	4	5
Numero de tamices					
18	T1	T2	T3	T4	T5
35	T6	T7	T8	T9	T10
60	T11	T12	T13	T14	T15

Fuente: Elaboración Propia

Luego de obtener 250 gr de cada tratamiento se procede a realizar el proceso de desacetilacion, para poder obtener quitosano para cada tratamiento (15 tratamientos), haciendo recordar que el proceso de desacetilacion es el mismo para cada tratamiento.

3.3.1.1 DESMINERALIZACIÓN

Al realizar este método observamos la separación de sales minerales (líquido amarillo parte final de matraz Erlenmeyer), proteína (burbuja que se observa en matraz Erlenmeyer) y de la quitina (producto obtenido).

DESMINERALIZACIÓN 1

Se Vacío 50 ml de HCl, también se agregó por 5 gr de quitina en un Matraz erlenmeyer, agitamos mediante el uso de una parrilla de agitación por 60 minutos a temperatura ambiente (28 °C), hasta observar la completa ausencia de burbujas en el medio ocasionadas por el carbonato de calcio que es convertido a CO₂ durante la reacción.

Neutralizar con agua, lavar, filtrar.



FIGURA 3.6 *Producto obtenido desmineralización 1*

DESMINERALIZACIÓN 2

Obtenido el producto filtrado procedemos a añadirle 50 ml de HCl en un Matraz Erlenmeyer, agitamos mediante el uso de una parrilla de agitación por 60 minutos a temperatura ambiente 28°C hasta observar la completa ausencia de burbujas en el medio ocasionadas por el carbonato de calcio que es convertido a CO₂ durante la reacción.

- ✓ Neutralizar con agua, lavar, filtrar y secar.
- ✓ secado en estufa.

Temperatura: 105 °C

Tiempo: 2 horas



FIGURA 3.7 *Producto obtenido desmineralización 2*

3.3.1.2 DESPROTEINIZACIÓN:

Este método se utiliza para la separación de la proteína, Al realizar la desmineralización se obtuvo una cantidad en gr de quitina, a esta cantidad se le realizan dos procesos de desproteinización la cual llamaremos desproteinización 1 y desproteinización 2

DESPROTEINIZACION 1

- ✓ Mezclamos 50 ml de NaOH 3N con el producto obtenido de la desmineralización 2, en un Matraz Erlenmeyer, agitamos mediante el uso de una parrilla de agitación por 60 min a temperatura ambiente 28 °C y observar la reacción. (Figura 3.8)

Hora de inicio: 11:05 am

Hora de Final: 12:05 am

- ✓ Luego se filtra, seguidamente obtenido el producto se le aplica otro proceso de desproteinización.



FIGURA 3.8 *Agitación desproteinización 1*



FIGURA 3.9 *Producto Obtenido desproteinización 1*

DESPROTEINIZACION 2

- ✓ Mezclamos 50 ml de NaOH 3N con el producto obtenido de la desproteinización 1 en un Matraz Erlenmeyer, agitamos mediante el uso de una parrilla de agitación por 30 min a temperatura de 40°C y observar la reacción.

Hora de inicio: 12:35 pm

Hora de inicio que llego a 40 °C: 1:00 pm

Hora Final: 1: 30 pm

- ✓ Luego se realiza el filtrado se coloca papel filtro en la filtradora, previo a este paso se humedece el papel filtro para que pueda quedar de forma exacta en el filtrador luego se filtra y el resultado que obtenemos.
- ✓ Se realiza el proceso de secado en la estufa a temperatura de 106°C por 2 horas.

- ✓ Al secar la muestra obtenemos quitina la cual se le aplicaran 2 procesos de despigmentación con acetona y con peróxido de hidrogeno.



FIGURA 3.10 *Proceso de filtrado desproteinizacion 2*



FIGURA 3.11 *Producto obtenido desproteinizacion 2 (quitina)*

3.3.1.3 DESPIGMENTACIÓN

DESPIGMENTACIÓN CON ACETONA

- ✓ Mezclamos en un vaso precipitado 20 ml de acetona + la quitina obtenida de la desproteinización 2.
- ✓ Previo a este paso cortamos papel aluminio de más o menos el contorno de la superficie del vaso precipitado para que cuando se agregue la acetona tapar el vaso precipitado lo podamos tapar y no se volatilice cuando ingrese al agitador.
- ✓ Agitación por 30 minutos a una temperatura de 40 °C

Hora de inicio: 12:15 pm

Hora de Fin: 12:45 pm

- ✓ Retiramos el vaso precipitado del agitador y procedemos a realizar el filtrado, colocamos el papel filtro en el filtrador y vaciamos el líquido que está en vaso precipitado obteniendo una quitina des pigmentada y filtrada, lo obtenido la agregamos a otro vaso precipitado para realizar la siguiente despigmentación.



FIGURA 3.12 *Proceso de filtrado despigmentación con acetona*



FIGURA 3.13 *Producto obtenido despigmentación con acetona*

DESPIGMENTACIÓN CON PERÓXIDO DE HIDROGENO

- ✓ Agregamos en un vaso precipitado la quitina obtenida des pigmentada + 10 ml de peróxido de hidrogeno y 10 ml de agua destilada.
- ✓ Agitación por 30 minutos a temperatura ambiente en el agitador.

Hora de inicio: 12:55 pm

Hora de Fin: 1:25 pm

- ✓ Realizamos el filtrado y lo que obtenemos lo llevamos al estufa por 2 horas a una temperatura de 106 °C

✓ Obtención de quitina despigmentada.



FIGURA 3.14 *Despigmentación con peróxido de hidrogeno*



FIGURA 3.15 *Producto obtenido despigmentación con peróxido de hidrogeno.*

3.3.1.4 DESACETILACION

- ✓ Luego que se obtuvo la quitina despigmentada, se pesó para saber cuánto de quitina despigmentada obtenemos.
- ✓ Se pesó 50gr de NaOH lo disolvemos y en un vaso precipitado, posteriormente agregamos agua destilada hasta llegar a un volumen de 100 ml.
- ✓ Luego arreglamos el desacetilador y agregamos la quitina despigmentada que pesamos + 100 ml de NaOH a un matraz de dos bocas colocando en una boca el termómetro y en la otra el desacetilador.
- ✓ Se puso un recipiente de aceite para llegar a la temperatura de 126°C.
- ✓ Se trabajó a una temperatura de 15 °C por 2 horas y 30 minutos.

Hora de inicio: 12:23 pm

Hora de inicio Temperatura a 126°C: 12:30pm

Hora de fin: 15:00 pm

- ✓ Posteriormente se realiza un Filtrado
- ✓ Obteniendo quitosano puro (Figura 3.19)



FIGURA 3.16 Agregamos la quitina más 100 ml de NaOH



FIGURA 3.17 Equipo desacetilador, proceso realizado por 2 horas y media



FIGURA 3.18 Proceso de filtrado de desacetilacion



FIGURA 3.19 Obtención de quitosano

3.4 TECNICAS E INSTRUMENTOS

METODOS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.

Datos cuantitativos continuos: provienen del proceso de medición, existiendo un número infinito de valores entre un rango de medición.

Tabla 3.6 *Variable de rendimiento en obtención de quitosano.*

Variable	Técnica	instrumento
Rendimiento en la Obtención de quitosano	Observación experimental	Métodos químicos.

Fuente: Elaboración propia

La técnica que se utilizara para medir la variable es de tipo observación experimental, usando instrumentos químicos para la recolección de resultados los cuales nos permiten analizarlos más adelante con la ayuda de métodos estadísticos.

Nivel de medición: unidad de análisis que caracteriza a las variables de investigación.

TIPO Y TÉCNICAS DE MUESTREO

MÉTODOS, TÉCNICAS

Uso de software de tratamiento y análisis paramétrico o no paramétrico y/o análisis cuantitativo o cualitativo de datos para la contratación de hipótesis: estadísticas descriptivas, inferencial, ANOVA, covarianza, correlaciones, regresiones, causalidades.

El análisis de los datos se realizó utilizando un software estadístico como el SPSS. Además, se usara MICROSOFT EXCEL para procesar la información y analizar registros obtenidos y así identificar las variables de interés y llegar a las conclusiones pertinentes, utilizando como herramientas de análisis de resultado tabulación de datos.

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS

En la siguiente **Tabla 4.1** se puede apreciar el porcentaje de rendimiento de quitosano para los diversos tratamientos realizados teniendo en cuenta que para nuestro proyecto se utilizó 5 gr de exoesqueletos para cada muestra y lo obtenido nos ayuda a corroborar con lo redactado por (Ayelén A. Barra1 , Aníbal S. Romero1 y Dr. Juan B. Beltramino2 . 2012.) 10 gramos de cáscaras secas, Muestras de Langostinos secas: 10 gr, Producto Final, quitosano: 2 gr, Rendimiento aproximado: 20 %.

Tabla 4.1 *Porcentaje de rendimiento de quitosano*

Tamiz/ %	Muestras	1	2	3	4	5
18		24.592	24.512	24.471	24.391	24.416
35		23.816	23.225	23.001	23.616	23.154
60		19.048	19.011	19.0253	19.032	18.994

Fuente. Elaboración propia

En la siguiente tabla **Tabla 4.2** se aprecia los pesos obtenidos en gramos para cada tratamiento y donde se aprecia que se puede obtener más cantidad en la muestra 1 de tamiz 18.

Tabla 4.2 *Peso de quitosano obtenido*

Número de muestras / Numero de tamices (gr)	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
18	1,2296	1.2193	1.2202	1.2199	1.2258
35	1,1908	1.1895	1.1903	1.1889	1.1901
60	0,9524	0.9502	0.9515	0.9506	0.9511

Fuente. Elaboración propia

En la siguiente **Tabla 4.3** se aprecia el porcentaje de pureza obtenido en gramos para cada tratamiento y donde se aprecia que se puede obtener mejor porcentaje de quitosano en la muestra 1 de tamiz 35. (Ayelén A. Barra¹, Aníbal S. Romero¹ y Dr. Juan B. Beltramino². 2012.) considera que el valor óptimo de desacetilación para el quitosano debe ser mayor a 60%. Los resultados que se muestran indican que el tratamiento para desacetilar la quitina fue adecuado. Al compararlo con la muestra sigma o comercial se aprecia una diferencia digna de destacar en cuanto al grado de desacetilación (...).

Tabla 4.3 *Porcentaje de pureza de quitosano*

Tamiz / Muestras (%)	1	2	3	4	5
18	51.52	50.98	51.39	51.43	51.1
35	70.84	70.62	70.52	70.16	70.01
60	56.35	56.03	56.31	56.18	56.22

Fuente. Elaboración propia

En la siguiente tabla Tabla 4.4 se puede apreciar que la muestra 1 tamiz 35 presenta mayor porcentaje humedad en los diversos números de tamices comparando (Ayelén A. Barra¹, Aníbal S. Romero¹ y Dr. Juan B. Beltramino², 2012.) con la humedad que han obtenido Muestra % Humedad quitosano muestra (langostinos), obtenido en el Lab. Esc. Agrop. Pcentaje de humedad 9.

Tabla 4.4 *Porcentaje de humedad del quitosano*

Tamiz/ muestras (%)	1	2	3	4	5
18	4.24	4.18	4.22	4.19	4.16
35	7.94	7.88	7.91	7.86	7.93
60	6.05	6.02	6	6.03	6.03

Fuente: Elaboración Propia

En la siguiente **Tabla 4.5** se aprecia el porcentaje de cenizas del quitosano obtenido, donde observamos mayor porcentaje de cenizas en la muestra 1 tamiz 18. (Nino Castro Mandujano¹ Clotilde Clelia Vidal Caldas², 2015) Para el caso del quitosano se determinó % de humedad (6,75%), % de cenizas (1,29%),

Tabla 4.5 *Porcentaje de cenizas del quitosano*

Tamiz/ muestras (%)	1	2	3	4	5
18	2.50	2.45	2.43	2.49	2.47
35	0.20	0.18	0.14	0.16	0.19
60	0.10	0.05	0.08	0.06	0.03

Fuente: Elaboración Propia

En la siguiente tabla **Tabla 4.6** se aprecia el resumen de los resultados que se obtuvieron desde el peso de quitina hasta el porcentaje de pureza del quitosano, también se logró observar mejor pureza muestra 1 tamiz 35 la cual es la más óptima para trabajar.

Tabla 4.6 *Resumen de resultados de obtención de quitina y quitosano*

VARIABLES	N° de TAMIZ	NUMEROS DE MUESTRA				
		1	2	3	4	5
Quitina	18	1.6387	1.6350	1.6365	1.6357	1.6381
(gr)	35	1.4387	1.4376	1.4380	1.4374	1.4379
	60	1.2733	1.2718	1.2729	1.2722	1.2725
Quitosano	18	1.2296	1.2193	1.2202	1.2199	1.2258
(gr)	35	1.1908	1.1895	1.1903	1.1889	1.1901
	60	0,9524	0.9502	0.9515	0.9506	0.9511
Rendimiento	18	24.592	24.512	24.471	24.391	24.416
(%)	35	23.816	23.225	23.001	23.616	23.154
	60	19.048	19.011	19.0253	19.032	18.994
Pureza	18	51.52	50.98	51.39	51.43	51.1
(%)	35	70.84	70.62	70.52	70.16	70.01
	60	56.35	56.03	56.31	56.18	56.22

Fuente: Elaboración Propia

En la siguiente **Tabla 4.7** se observa el resumen de resultados obtenidos del método N-acetilación el cual detalla el porcentaje de grupos aminos consta nuestra muestra y de este modo nos demuestra el porcentaje de pureza de quitosano obtendremos. (Hernández, Ileana 2004) indica que uno de los parámetros de mayor importancia a la hora de caracterizar la quitosano es el grado de acetilación (GA). Este parámetro se define como el número de unidades acetiladas (-NHCOCH_3) presentes en la estructura de la molécula de quitosano.

Tabla 4.7 Resumen de porcentaje de grupos aminos NH_2 para las mejores muestras según tamiz (porcentaje de pureza)

			MUESTRA N°1(malla 60)	MUESTRA N°1 (malla 35)	MUESTRA (malla 18)	N°1
% NH_2	GRAFICA pH/VOLUMEN		70.84%	64.40%	38.64%	
% NH_2	GRAFICA PRIMERA DERIVADA		55.54%	70.84%	51.52%	
% NH_2	GRAFICA SEGUNDA DERIVADA		56.35%	70.84%	51.52%	

Fuente: Elaboración Propia

En la siguiente **Tabla 4.8** se aprecia los datos de la titulación que se realizó, se controló volumen de NaOH 0.1N y se registró pH para cada volumen, a partir de estos datos, mediante fórmulas que se detalla en anexos tabla I donde se logró obtener datos para primera derivada grafica N°1, grafica N°2, segunda derivada grafica N°3.

Tabla 4.8 Datos de titulación N-Acetilación con NaOH 0.1N Muestra N°1 Tamiz N° 60

VOLUMEN	pH	PRIMERA DERIVADA		SEGUNDA DERIVADA	
		DIFERENCIA DE pH /DIF.VOLUMEN	VOLUMEN PROMEDIO	V PROMEDIO	d(dpH /dv)
0	1.3	0.01	0		0.01
2	1.32	0.015	1	2	0.00
4	1.35	0.02	3	4	0.00
6	1.39	0.02	5	6	0.00
8	1.43	0.015	7	8	0.00
10	1.46	0.02	9	10	0.00
12	1.5	0.02	11	12	0.00
14	1.54	0.025	13	14	0.00
16	1.59	0.025	15	16	0.00
18	1.64	0.025	17	18	0.00
20	1.69	0.025	19	20	0.00
22	1.74	0.03	21	22	0.00
24	1.8	0.04	23	24	0.00
26	1.88	0.04	25	26	0.00
28	1.96	0.045	27	28	0.01
30	2.05	0.06	29	30	0.01
32	2.17	0.075	31	32	0.02

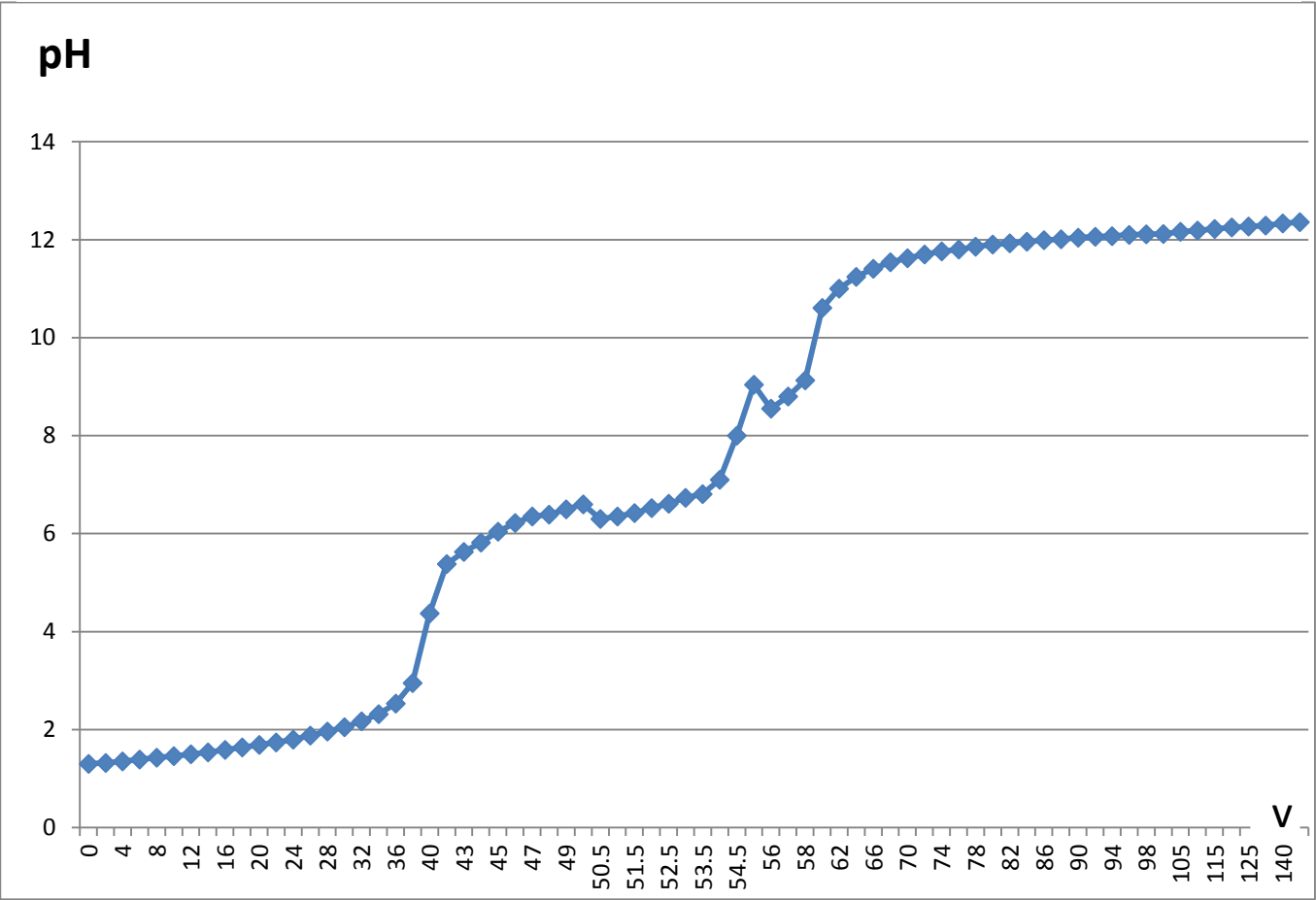
VOLUMEN	pH	PRIMERA DERIVADA		SEGUNDA DERIVADA	
		DIFERENCIA DE pH /DIF.VOLUMEN	VOLUMEN PROMEDIO	V PROMEDIO	d(dpH /dv)
34	2.32	0.105	33	34	0.05
36	2.53	0.21	35	36	0.25
38	2.95	0.71	37	38	-0.1
40	4.37	0.505	39	40	-0.13
42	5.38	0.25	41	41.75	-0.04
43	5.63	0.19	42.5	43	0.03
44	5.82	0.22	43.5	44	-0.04
45	6.04	0.18	44.5	45	-0.05
46	6.22	0.13	45.5	46	-0.09
47	6.35	0.04	46.5	47	0.07
48	6.39	0.11	47.5	48	-0.01
49	6.5	0.1	48.5	49	-0.7
50	6.6	-0.6	49.5	49.875	0.93
50.5	6.3	0.1	50.25	50.5	0.08
51	6.35	0.14	50.75	51	0.12
51.5	6.42	0.2	51.25	51.5	-0.04
52	6.52	0.18	51.75	52	0.12
52.5	6.61	0.24	52.25	52.5	-0.16
53	6.73	0.16	52.75	53	0.84
53.5	6.81	0.58	53.25	53.5	2.44
54	7.1	1.8	53.75	54	0.56
54.5	8	2.08	54.25	54.5	-5.14
55	9.04	-0.49	54.75	55.125	0.99
56	8.55	0.25	55.5	56	0.08
57	8.8	0.33	56.5	57	0.41
58	9.13	0.74	57.5	58.25	-0.36
60	10.61	0.195	59	60	-0.04
62	11	0.12	61	62	-0.02
64	11.24	0.085	63	64	-0.01
66	11.41	0.065	65	66	-0.01
68	11.54	0.04	67	68	0
70	11.62	0.04	69	70	0
72	11.7	0.03	71	72	0
74	11.76	0.02	73	74	0
76	11.8	0.03	75	76	0
78	11.86	0.02	77	78	0

VOLUMEN	pH	PRIMERA DERIVADA		SEGUNDA DERIVADA	
		DIFERENCIA DE pH /DIF.VOLUMEN	VOLUMEN PROMEDIO	V PROMEDIO	d(dpH /dv)
80	11.9	0.015	79	80	0
82	11.93	0.015	81	82	0
84	11.96	0.015	83	84	0
86	11.99	0.01	85	86	0
88	12.01	0.015	87	88	0
90	12.04	0.01	89	90	0
92	12.06	0.005	91	92	0
94	12.07	0.015	93	94	0
96	12.1	0.005	95	96	0
98	12.11	0.005	97	98	0
100	12.12	0.008	99	100.75	0
105	12.16	0.006	102.5	105	0
110	12.19	0.006	107.5	110	0
115	12.22	0.006	112.5	115	0
120	12.25	0.004	117.5	120	0
125	12.27	0.004	122.5	125	0
130	12.29	0.004	127.5	131.25	0
140	12.33	0.003	135		
150	12.36				

Fuente: Elaboración propia

En la siguiente **FIGURA 4.1** se detalla pH vs volumen obteniendo el punto más alto y el punto más bajo, pero no se tiene mucha confianza a los datos que arroja esta grafica por lo tanto se deriva a realizar la gráfica de primera y segunda derivada.

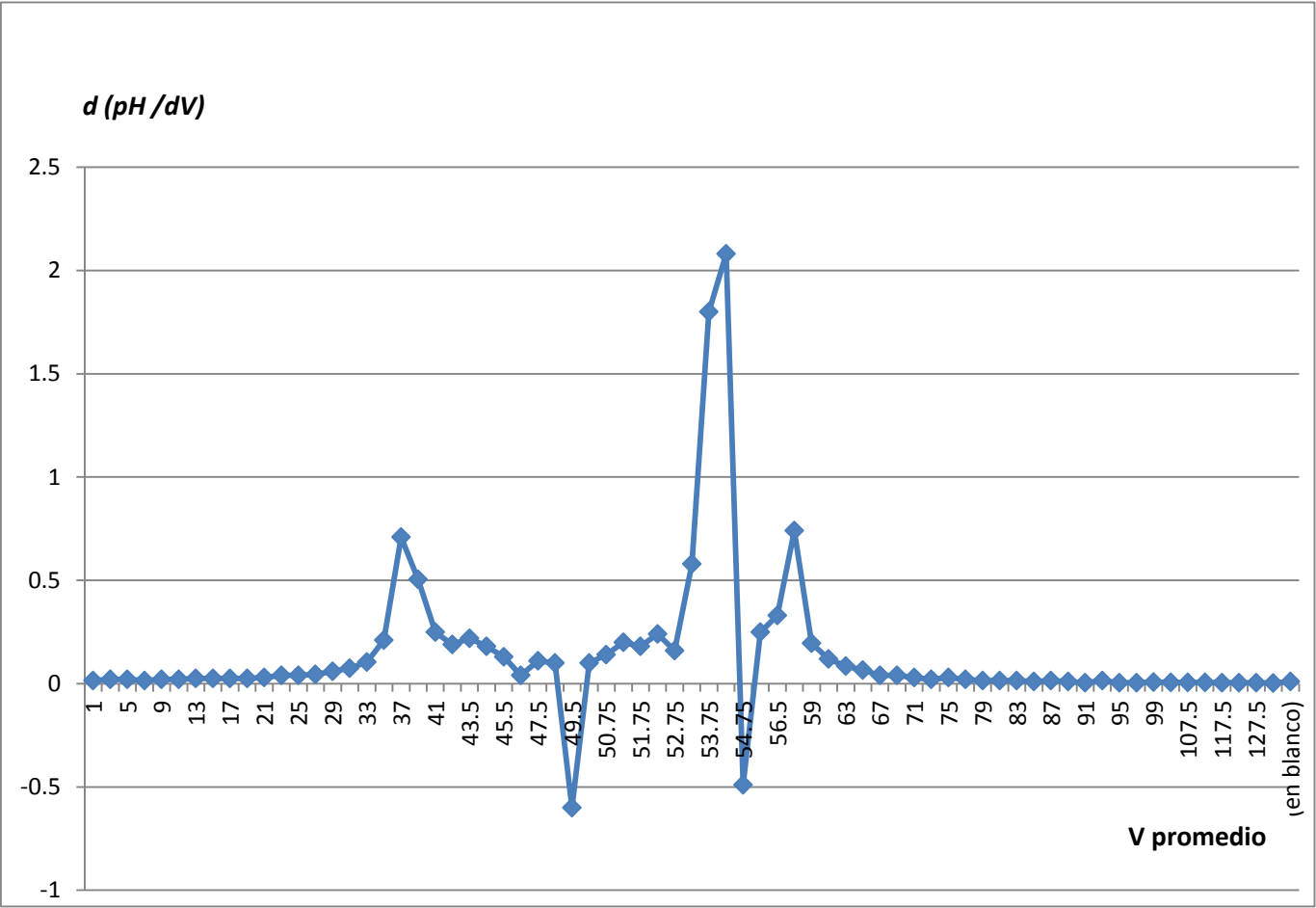
FIGURA 4.1 Grafica pH / Volumen muestra 1 tamiz 60



Fuente: Elaboración Propia

En la siguiente **FIGURA 4.2** se detallan los puntos más exactos que la **FIGURA 4.1**, existe un poco más de confiabilidad que la gráfica anterior.

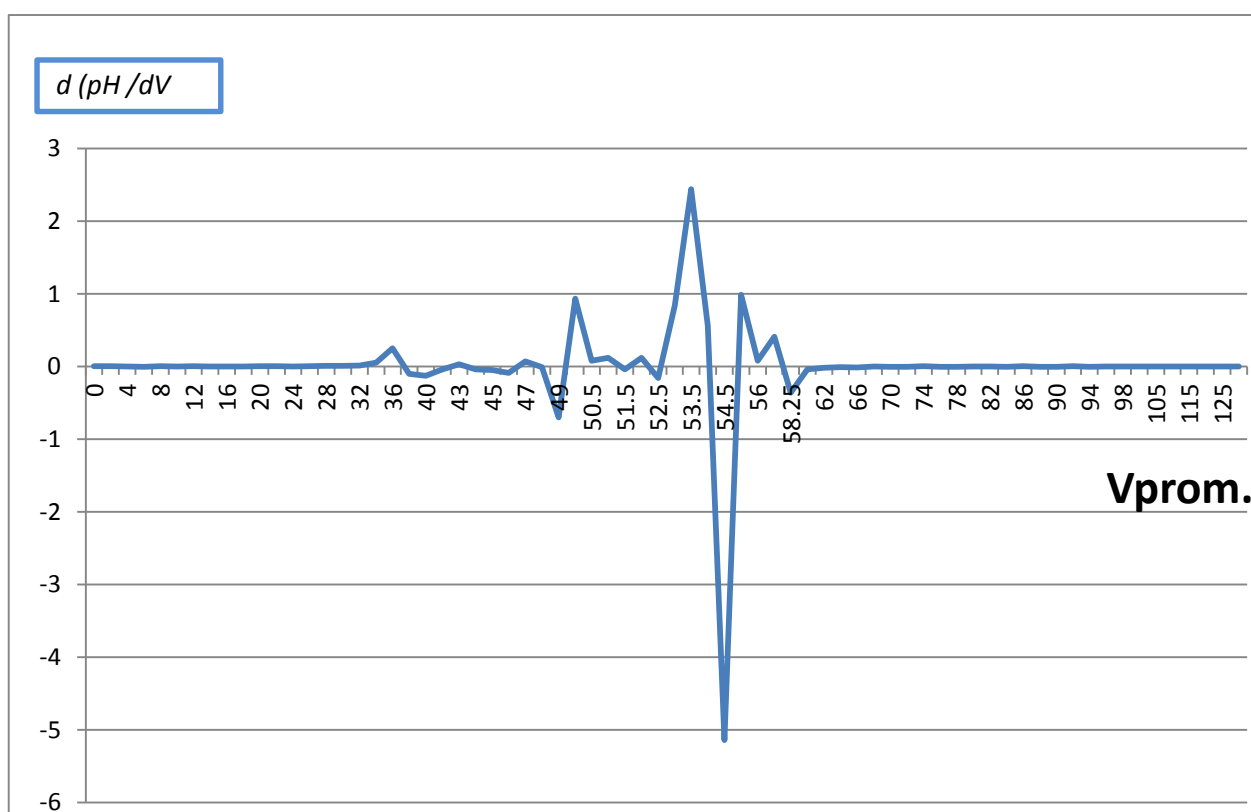
FIGURA 4.2 $d(pH/dV) / V_{promedio}$ primera derivada



Fuente: Elaboración Propia

En la siguiente **FIGURA 4.3** se detallan los datos de la segunda derivada grafica con más confiabilidad para el resultado de porcentaje de pureza.

FIGURA 4.3 $d(pH/dV) / V_{promedio}$ segunda derivada



Fuente: Elaboración propia

En la siguiente **Tabla 4.9** se realiza el mismo proceso que se realizó para muestra N°1 tamiz 18 teniendo en cuenta que este proceso se realiza para todas las muestras.

Tabla 4.9 Datos de titulación N-Acetilación con NaOH 0.1N Muestra N°1 Tamiz 35

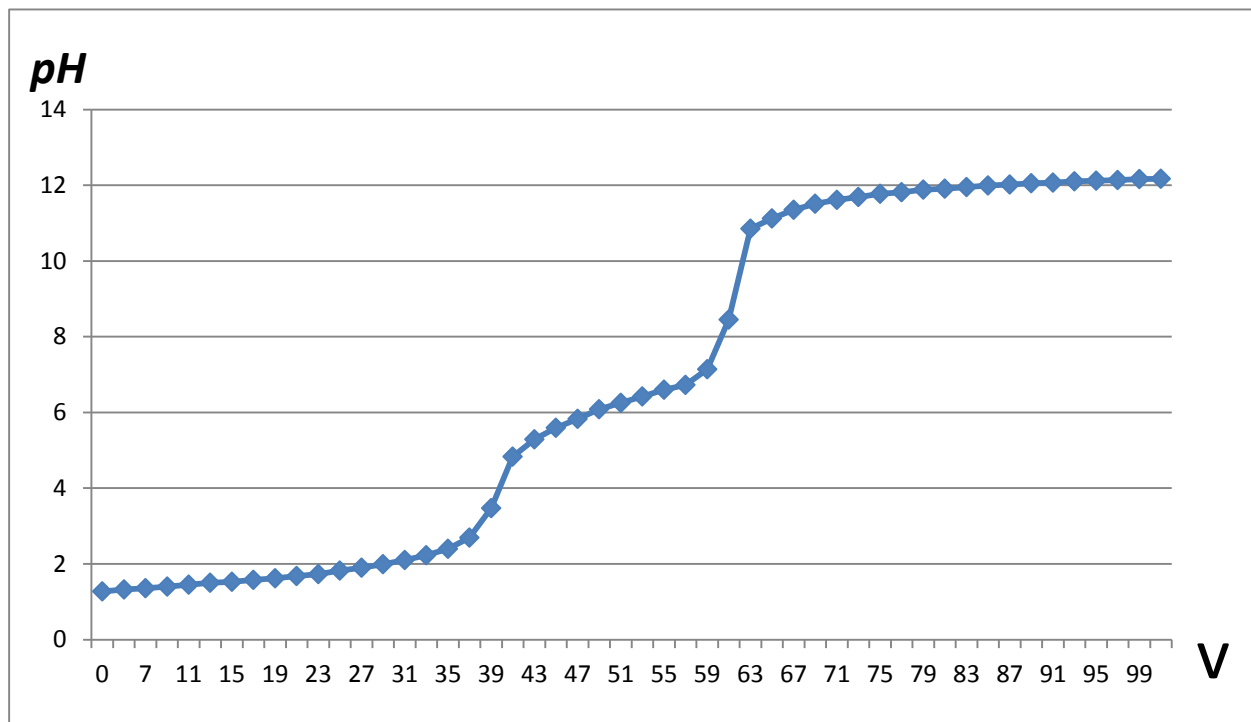
VOLUMEN	pH	PRIMERA DERIVADA		SEGUNDA DERIVADA	
		DIFERENCIA DE pH /DIF.VOLUMEN	VOLUMEN PROMEDIO	V PROMEDIO	d(dpH /dv)
0	1.27	0	0	0	0
5	1.32	0.01	2.5	4.25	0.00
7	1.36	0.02	6	7	0.00
9	1.4	0.02	8	9	0.00
11	1.45	0.025	10	11	0.00
13	1.5	0.025	12	13	-0.01
15	1.53	0.015	14	15	0.01
17	1.58	0.025	16	17	0.00
19	1.62	0.02	18	19	0.00
21	1.68	0.03	20	21	0.00
23	1.73	0.025	22	23	0.01
25	1.82	0.045	24	25	0.00
27	1.9	0.04	26	27	0.00
29	1.99	0.045	28	29	0.01
31	2.1	0.055	30	31	0.00
33	2.23	0.065	32	33	0.01
35	2.4	0.085	34	35	0.03
37	2.69	0.145	36	37	0.12
39	3.47	0.39	38	39	0.15
41	4.83	0.68	40	41	-0.23
43	5.29	0.23	42	43	-0.04
45	5.59	0.15	44	45	-0.01
47	5.83	0.12	46	47	0.00
49	6.08	0.125	48	49	-0.02
51	6.25	0.085	50	51	0.00
53	6.42	0.085	52	53	0.00
55	6.6	0.09	54	55	-0.01
57	6.73	0.065	56	57	0.07
59	7.14	0.205	58	59	0.23
61	8.45	0.655	60	61	0.27
63	10.85	1.2	62	63	-0.53
65	11.12	0.135	64	65	-0.01
67	11.35	0.115	66	67	-0.02

VOLUMEN	pH	PRIMERA DERIVADA		SEGUNDA DERIVADA	
		DIFERENCIA DE pH /DIF.VOLUMEN	VOLUMEN PROMEDIO	V PROMEDIO	d(dpH /dv)
69	11.51	0.08	68	69	-0.02
71	11.61	0.05	70	71	0
73	11.69	0.04	72	73	0
75	11.77	0.04	74	75	-0.01
77	11.82	0.025	76	77	0
79	11.88	0.03	78	79	-0.01
81	11.91	0.015	80	81	0
83	11.95	0.02	82	83	0
85	11.99	0.02	84	85	0
87	12.02	0.015	86	87	0
89	12.05	0.015	88	89	0
91	12.07	0.01	90	91	0
93	12.1	0.015	92	93	0
95	12.12	0.01	94	95	0
97	12.14	0.01	96	97	0
99	12.16	0.01	98	98.75	0
100	12.17	0.01	99.5		

Fuente: Elaboración Propia

En la siguiente **FIGURA 4.4** nos muestra datos de los puntos de inflexión, pero no existe mucha confianza con los datos por eso se recomienda hacer dos derivadas

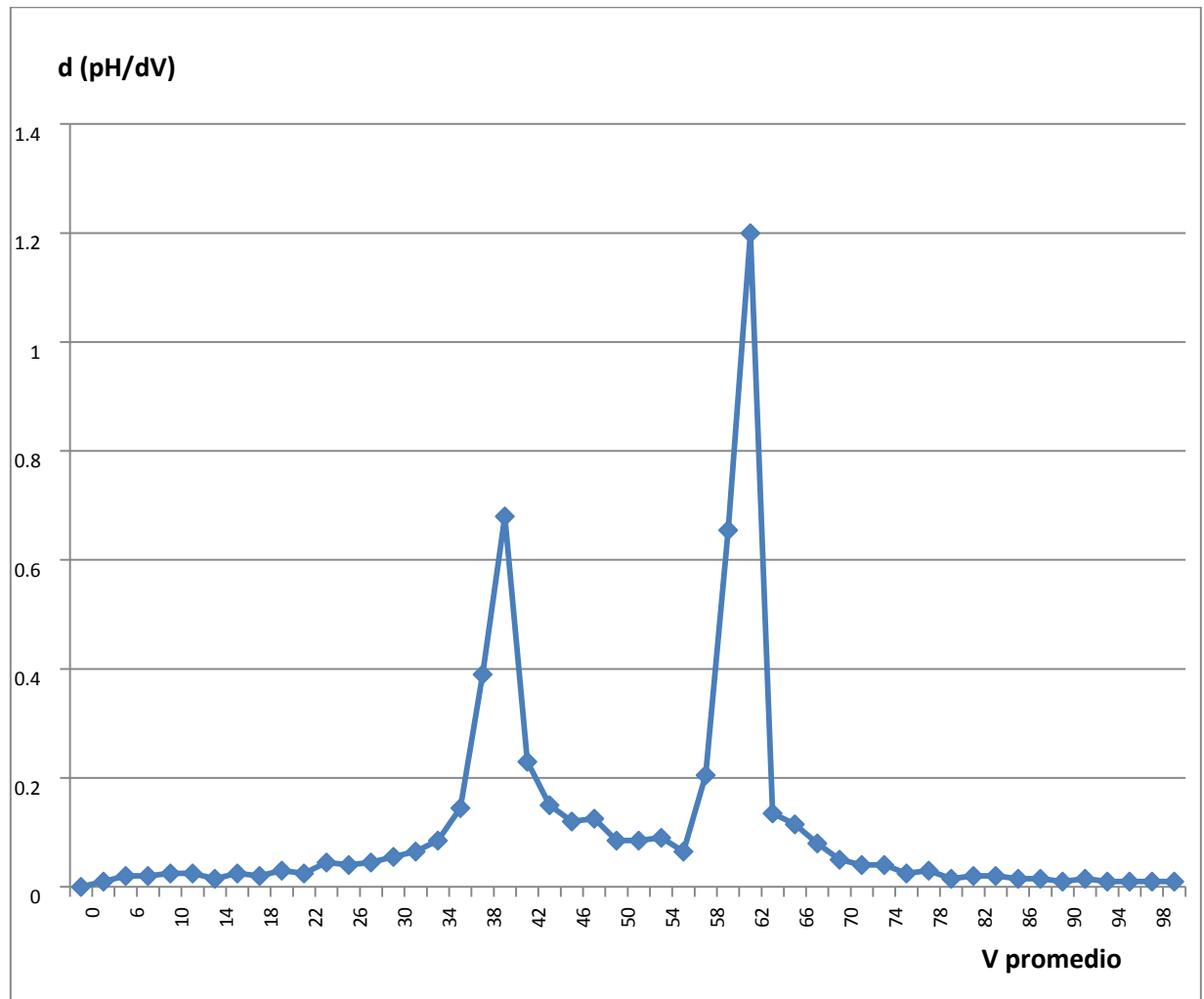
FIGURA 4.4 *Grafica pH / Volumen muestra 1 tamiz 35*



Fuente: Elaboración Propia

En la siguiente **FIGURA 4.5** se observan los puntos de inflexión más confiables.

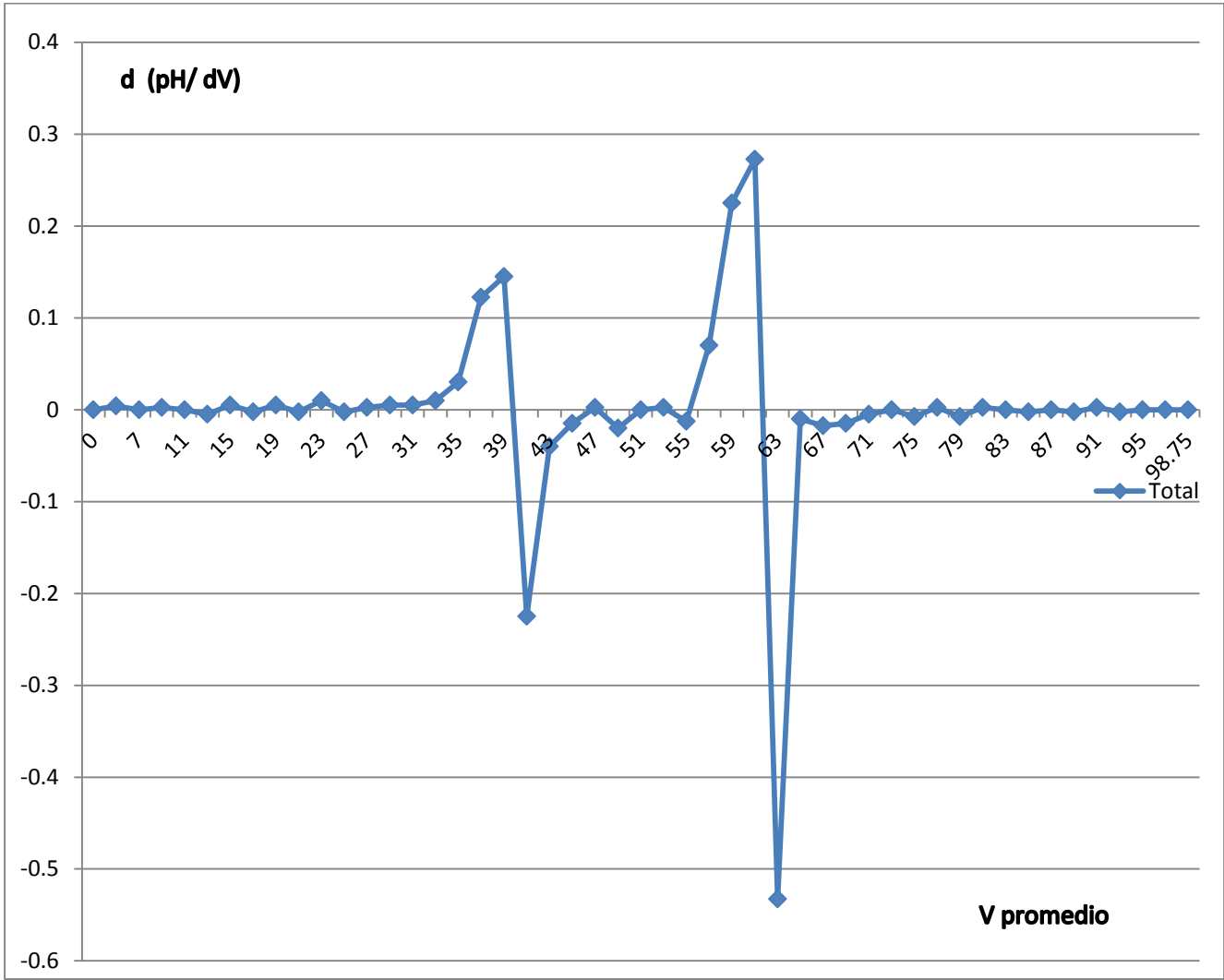
FIGURA 4.5 $d(pH/dV)$ / V promedio primera derivada



Fuente: Elaboración propia.

En la siguiente **FIGURA 4.6** se observan los puntos de inflexión más confiable que los datos de la primera derivada.

FIGURA 4.6 $d(pH/dV) / V_{promedio}$ Segunda derivada



Fuente: Elaboración propia

En la siguiente **Tabla 4.10** se detallan los datos obtenidos en la titulación del método N-Acetilación.

Tabla 4.10 Datos de titulación N-acetilación con NaOH 0.1N muestra N°1 tamiz 18

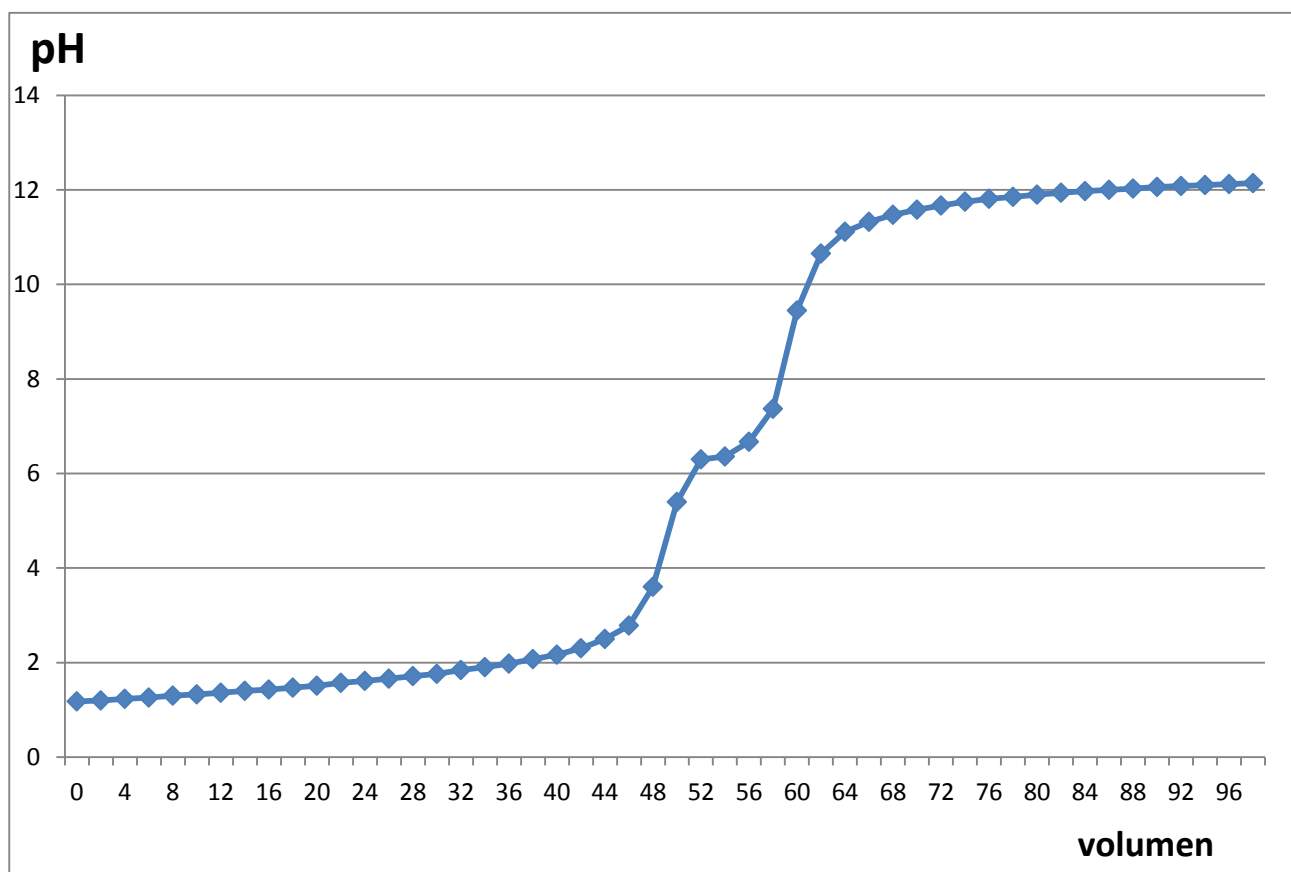
VOLUMEN	pH	PRIMERA DERIVADA		SEGUNDA DERIVADA	
		DIFERENCIA DE PH /DIF.VOLUMEN	VOLUMEN PROMEDIO	VOLUMEN PROMEDIO	d(dpH /dv)
0	1.18	0	0	0	0
2	1.2	0.01	1	2	0.01
4	1.23	0.015	3	4	0.00
6	1.26	0.015	5	6	0.00
8	1.3	0.02	7	8	0.00
10	1.33	0.015	9	10	0.00
12	1.36	0.015	11	12	0.00
14	1.4	0.02	13	14	0.00
16	1.43	0.015	15	16	0.00
18	1.47	0.02	17	18	0.00
20	1.51	0.02	19	20	0.01
22	1.57	0.03	21	22	-0.01
24	1.61	0.02	23	24	0.00
26	1.66	0.025	25	26	0.00
28	1.71	0.025	27	28	0.00
30	1.76	0.025	29	30	0.01
32	1.84	0.04	31	32	-0.01
34	1.9	0.03	33	34	0.01
36	1.98	0.04	35	36	0.00
38	2.07	0.045	37	38	0.00
40	2.17	0.05	39	40	0.01
42	2.3	0.065	41	42	0.02
44	2.5	0.1	43	44	0.02
46	2.78	0.14	45	46	0.14
48	3.6	0.41	47	48	0.25
50	5.4	0.9	49	50	-0.23
52	6.3	0.45	51	52	-0.21
54	6.36	0.03	53	54	0.06
56	6.67	0.155	55	56	0.10
58	7.37	0.35	57	58	0.35
60	9.45	1.04	59	60	-0.22
62	10.65	0.6	61	62	-0.19
64	11.11	0.23	63	64	-0.06
66	11.32	0.105	65	66	-0.02
68	11.47	0.075	67	68	-0.01

		PRIMERA DERIVADA		SEGUNDA DERIVADA	
VOLUMEN	pH	DIFERENCIA DE PH /DIF.VOLUMEN	VOLUMEN PROMEDIO	VOLUMEN PROMEDIO	d(dpH /dv)
70	11.58	0.055	69	70	0
72	11.67	0.045	71	72	0
74	11.75	0.04	73	74	0
76	11.81	0.03	75	76	-0.01
78	11.85	0.02	77	78	0
80	11.9	0.025	79	80	0
82	11.94	0.02	81	82	0
84	11.97	0.015	83	84	0
86	12	0.015	85	86	0
88	12.03	0.015	87	88	0
90	12.06	0.015	89	90	0
92	12.08	0.01	91	92	0
94	12.1	0.01	93	94	0
96	12.12	0.01	95	96	0
98	12.14	0.01	97	98	0
100	12.16	0.01	99		

Fuente: Elaboración propia

En la siguiente **FIGURA 4.7** se detallan los datos de la titulación del método N-Acetilación. pH vs volumen del tamiz 18 muestra 1.

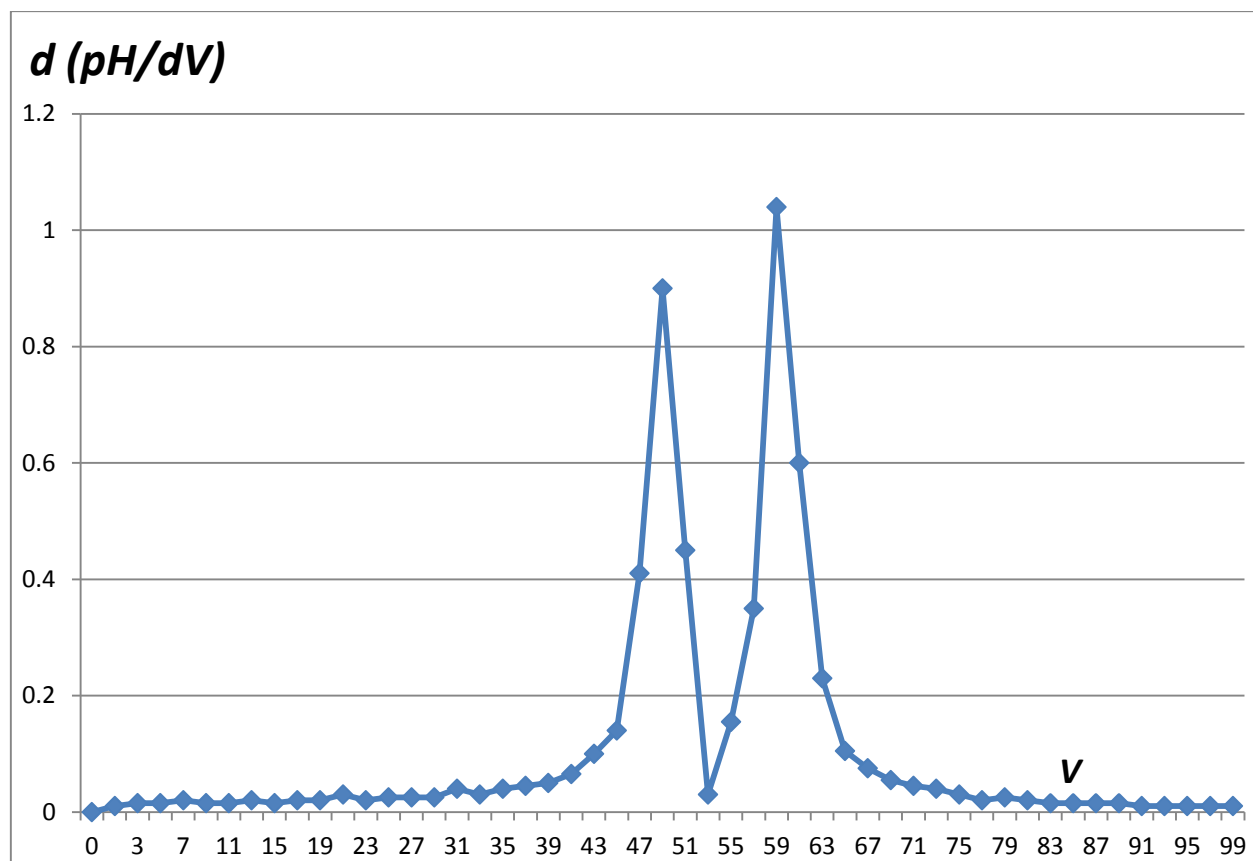
FIGURA 4.7 *pH / Volumen muestra 1 tamiz 18*



Fuente: Elaboración Propia

En la siguiente **FIGURA 4.8** se detallan los puntos de inflexión más confiables que la **FIGURA 4.7**

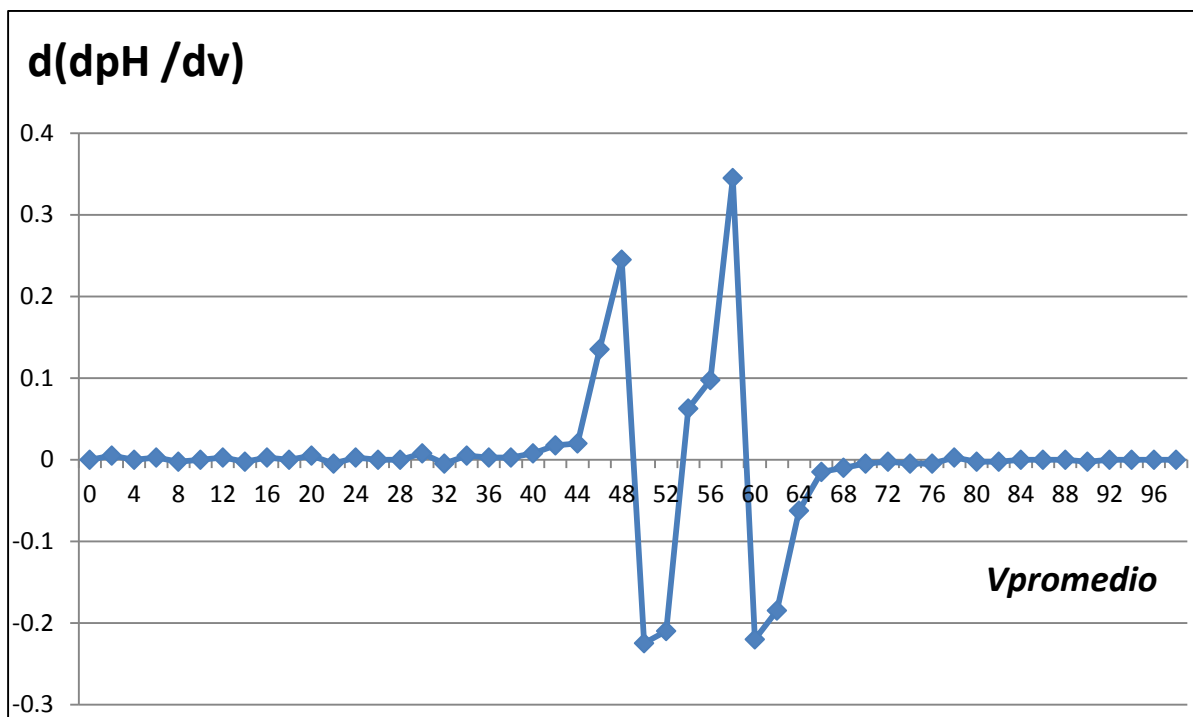
FIGURA 4.8 $d(pH/dV) / V$ promedio primera derivada



Fuente: Elaboración propia.

En la siguiente **FIGURA 4.9** se detallan los puntos de inflexión más exactos que la **FIGURA 4.8** proporcionando mejor confianza y poder obtener el porcentaje de pureza.

FIGURA 4.9 $(d(pH/dV) / V_{promedio})$ segunda derivada



Fuente: Elaboración propia.

En la siguiente **Tabla 4.11** se observan resultados de porcentaje de humedad de la materia prima. (Nino Castro Mandujano¹ Clotilde Clelia Vidal Caldas², 2015) indica que Se caracterizó a la quitina, obteniéndose el % de humedad (9,63%), Teniendo en cuenta que los datos de esta tesis son de “muy muy” (emérita análoga).

Resultados de humedad y cenizas de la muestra inicial (antes de realizar los procesos para la obtención de quitosano)

Tabla 4.11 *Humedad materia prima*

Tamiz/ (%)	Muestras	1	2	3	4	5
18		13.20	12.60	13.00	12.80	13.10
35		17.04	16.90	16.70	17.00	17.04
60		21.10	21.00	21.06	19.98	21.02

Fuente: Elaboración propia

En la siguiente **Tabla 4.12** se aprecia resultados obtenidos de porcentaje de cenizas de la materia prima. (Nino Castro Mandujano¹ Clotilde Clelia Vidal Caldas², 2015) Se caracterizó a la quitina, obteniéndose % de cenizas (2,38%), % de nitrógeno (2,28%) y % de desacetilación se realizó por espectroscopia infrarroja la cual dio 52,8%. Teniendo en cuenta que los datos de esta tesis son de “muy muy” (emérita análoga).

Tabla 4.12 *Cenizas materia prima*

Cenizas Prima (%)	Materia	1	2	3	4	5
18		5.98	5.90	5.89	5.94	5.98
35		6.18	6.15	6.10	6.16	6.17
60		6.36	6.30	6.36	6.31	6.28

Fuente: Elaboración propia.

En la siguiente **Tabla 4.13** se aprecian los resultados en porcentaje de proteínas grasas y carbohidratos.

Tabla 4.13 *Porcentaje de proteínas, grasas y carbohidratos de la materia prima*

Análisis	Número de muestras / Numero de tamices	1	2	3	4	5
proteínas %	18	45.40	45.38	45.36	45.39	45.37
	35	49.14	49.12	49.09	49.13	49.11
	60	50.03	50.00	50.01	50.02	50.01
Grasas %	18	1.10	1.07	1.09	1.08	1.06
	35	1.26	1.22	1.25	1.23	1.25
	60	1.52	1.49	1.51	1.50	1.50
Carbohidratos %	18	10.00	9.99	10.00	9.98	10.00
	35	11.52	11.50	11.49	11.50	11.51
	60	12.01	12.00	11.99	12.00	11.98

Fuente: Elaboración propia.

Resultados Microbiológicos

Podemos observar que en la **Tabla 4.14** se muestran resultados de mohos menores a 3 (ufc/g) indicándonos que no hay mohos y 0.5×10 (ufc/g) presencia mínima de mohos según resultados microbiológico del departamento de ingeniería pesquera (ICMS F Metodo 1, pag. 166-167, 2da Ed., Reimpresion 2000).

Tabla 4.14 *Resultados mohos (UFC/g)*

Tamiz/ Muestras	1	2	3	4	5
18	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
35	< 3	0.5×10	< 3	0.5×10	< 3
60	< 3	0.5×10	< 3	< 3	< 3

Fuente: Elaboración propia

En la siguiente **Tabla 4.15** se puede apreciar ausencia de Echericia Coli (Nmp/G) según resultados microbiológico del departamento de ingeniería pesquera (ISO 9308-1 chromocult®)

Tabla 4.15 *Resultados Echericia Coli (Nmp/G)*

Tamiz/ Muestras	1	2	3	4	5
18	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0

Fuente: Elaboración propia

En la siguiente **Tabla 4.16** se puede apreciar ausencia de salmonella según resultados microbiológico del departamento de ingeniería pesquera (ICMSF PAg.172-176 Ítem 10 (a) y (c), 177 II- 178 III, 2da Ed. Reimpresión 2000).

Tabla 4.16 *Resultados Salmonella (ausencia/ 25g)*

Tamiz/ Muestras	1	2	3	4	5
18	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0

Fuente: Elaboración propia

Resultados Metodológicos

La **Tabla 4.17** a continuación nos detalla el porcentaje de pureza de quitosano que se obtiene para cada tratamiento teniendo en cuenta las cinco muestras y los tres tipos de tamiz.

Tabla 4.17 *Diseño Unifactorial Variable Respuesta: porcentaje de pureza*

Numero de muestras /	1	2	3	4	5
Numero de tamices					
18	51.52	50.98	51.39	51.43	51.1
35	70.84	70.62	70.52	70.16	70.01
60	56.35	56.03	56.31	56.18	56.22

Fuente: *Elaboración Propia*

Según el ANOVA **Tabla 4.18** realizado respecto a los datos del porcentaje de pureza se puede concluir que existe diferencia significativa entre los tipos de tamices: 18, 35 y 60.

Tabla 4.18 *ANOVA Pruebas de efectos inter-sujetos (Variable dependiente: Pureza)*

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1042,527 ^a	2	521,264	849,716	,000
Intersección	53052,592	1	53052,592	86481,402	,000
TAMIZ	1042,527	2	521,264	849,716	,000
Error	7,361	12	,613		
Total	54102,481	15			
Total corregido	1049,889	14			

Fuente: Programa SPSS

a. R al cuadrado = ,993 (R al cuadrado ajustada = ,992)

En la siguiente **Tabla 4.19** se aprecia que nuestro mejor quitosano según su porcentaje de pureza es el de tamiz 35 según la prueba de Duncan.

Pruebas post hoc TAMIZ Subconjuntos homogéneos

Tabla 4.19 *Duncan^{a,b} Pureza*

TAMIZ	N	Subconjunto		
		1	2	3
18,000	5	51,28400		
60,000	5		56,21800	
35,000	5			70,91200
Sig.		1,000	1,000	1,000

Fuente: Programa SPSS

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

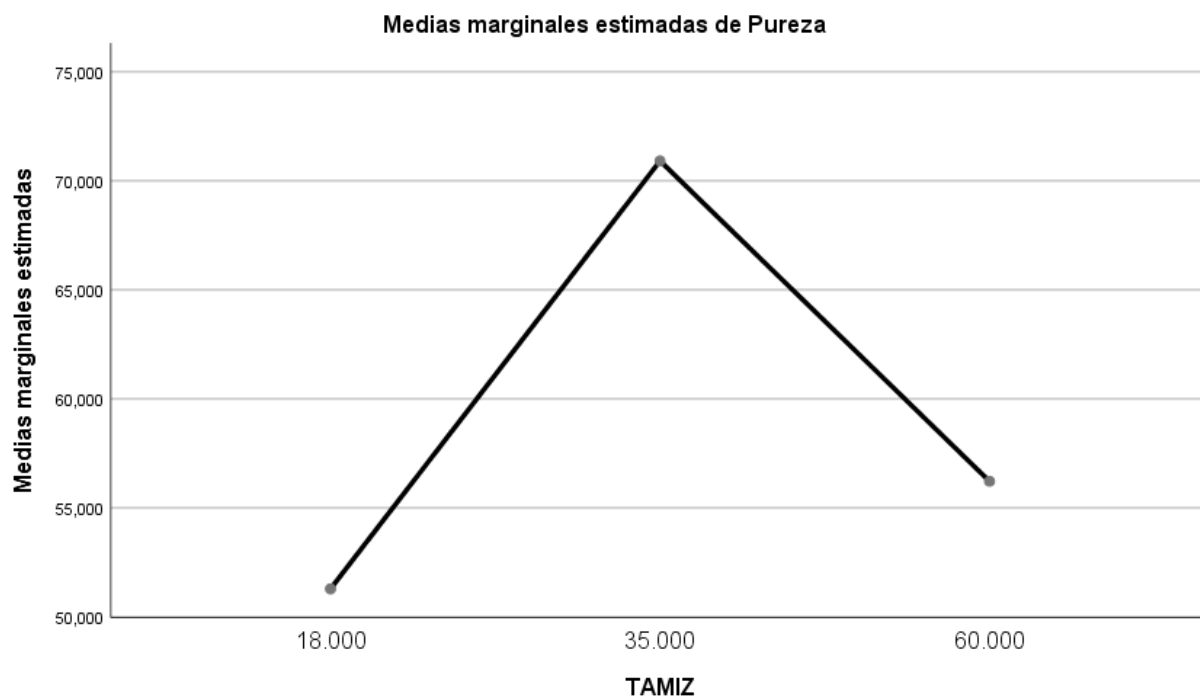
El término de error es la media cuadrática (Error) = ,613.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

b. Alfa = 0.05.

En la siguiente **FIGURA 4.10**, según el método de Duncan nos dice que utilizando el tamiz 35 obtendremos mejor porcentaje de pureza de quitosano, se aprecian mejor los resultados en la **FIGURA 4.6** y **Tabla 4.3**.

FIGURA 4.10 *Promedio de pureza de quitosano según número de tamiz*



Fuente: Programa SPSS

4.2 DISCUSION

- Se pudo obtener quitosano, de acuerdo a nuestros resultados, en el cual se obtiene mejor rendimiento 24,592 %, al tamiz número 18 el cual presenta mayor diámetro de partícula de área superficial y menor rendimiento 19.048 %. al tamiz número 60 el cual presenta menor diámetro de partícula de área superficial (**Tabla 4.1**), pero con respecto al porcentaje de pureza de quitosano observamos en la (**Tabla 4.3**) que nuestro mejor quitosano 70, 84 % es el del tamiz 35, discutiendo que el tamiz número 18 nos podrá dar mejor rendimiento, pero en pureza nos arroja como el peor quitosano obtenido 51.52%, H. Hernández Cocolletzi(2009) [El porcentaje de desacetilación del quitosano obtenido es de 64 %. Los resultados de porcentaje de ceniza, humedad y materia insoluble demuestran que la pureza de nuestro quitosano es aceptable, quizá no para aplicaciones médicas o farmacéuticas, ya que estos exigen valores mucho menores para los fines prácticos que conllevan estos ámbitos, pero si es funcional como para aplicarlo, por ejemplo, en el control ambiental. El quitosano obtenido contiene un bajo porcentaje de proteína.
- Debemos tener en cuenta que el mejor rendimiento 24,592 % para nuestro proyecto resultó para el tamiz 18 siendo su medida de 1000 μm , mientras que H. Hernández Cocolletzi (2009) afirma que los exoesqueletos secos y libres de cabeza, patas y cola se sometieron a un proceso de tamizado buscando obtener un polvo con tamaños de partícula menor que 250 μm . Para llevar a cabo la desmineralización de los exoesqueletos, el rendimiento fue del 51.94% lo que permite observar que se logró una transformación sintética eficiente. Y lo cual se discute que su tamiz que utilizó es el número 60 donde a él le resulta 51.94% y a nosotros 19,04 8%, rechazando este resultado sobre rendimiento H. Hernández Cocolletzi (2009).

- Según nuestro proyecto queremos obtener quitosano de mejor pureza y debemos trabajar con el tamiz número 35 como se detalla en la **Tabla 4.3** según el procedimiento de N-Acetilación en la cual demostramos que se obtiene mejor porcentaje de pureza en la **FIGURA 4.6**. [Debido a la gran influencia que tiene el grado de desacetilación prácticamente en todas las aplicaciones de la quitosana es de importancia prioritaria determinar este parámetro de una forma sencilla, rápida y precisa. Existen también a la fecha una gran cantidad de métodos reportados para estimar el DD de quitosana, entre otros se conocen: titulación potenciométrica (Jiang, Chen, & Zhong, 2003), espectrofotometría UV-Vis (Wu & Zivanovic, 2008), resonancia magnética nuclear (RMN) (Fernandez-Megia, Novoa-Carballal, Quiñoá, & Riguera, 2005), espectroscopia de infrarrojo (FTIR) (Brugnerotto et al., 2001) y recientemente espectroscopia Raman (Zajac, Hanuza, Wandas, & Dymińska, 2015)].

- Se determinó los parámetros de la materia prima en porcentajes de humedad del exoesqueleto, número de malla del exoesqueleto, secado y molido. Para la obtención de quitosano. Presenta menor humedad el tamiz 18 y mayor humedad en el tamiz 60, teniendo en cuenta que las muestras fueron secadas a temperatura ambiente y no se logró realizar un secado que elimine 100 % la humedad se logra apreciar los resultados en la (**Tabla 4.11** y **Tabla 4.12**). La humedad de la muestra inicial (quitina), es mucho mayor con respecto a la humedad del quitosano obtenido, H. Hernández Cocoltzi* (2009). El contenido de humedad obtenido es menor que el reportado (Tabla 1 muestra inicial). La pérdida de agua en la muestra es debida a procesos físicos y químicos durante la etapa de obtención del quitosano, se llega a concluir que lo expuesto por H. Hernández Cocoltzi (2009) es verdad al obtener quitosano de humedad es menor respecto al porcentaje de humedad de la muestra inicial.

CONCLUSIONES

- ✓ Se logró obtener quitosano a partir de exoesqueletos de langostino mediante el método de desacetilación (**Tabla 4.2**) donde se logra visualizar los datos de peso de quitosano y concluyendo que se obtiene mayor peso de quitosano con el tamiz 18 y menor peso de quitosano en el tamiz 60, Se concluye mientras más pequeño el número de partícula menor peso y mientras más grande el número de partícula mayor peso según (**Tabla 4.2**).
- ✓ Se logró determinar el porcentaje de humedad y cenizas de la materia prima, obteniendo mayor porcentaje de humedad 21.10 % en la muestra de tamiz 60 y mayor porcentaje de cenizas 6.36 % en la muestra de tamiz 60. se pueden apreciar los resultados en la **Tabla 4.11** y **Tabla 4.12**.
- ✓ Se realizó el análisis microbiológico al producto obtenido (quitosano) donde se puede apreciar que nuestras muestras presentan ausencia de echerichia coli lo que nos indica que no presencia de contaminación de origen fecal. También se puede apreciar en la prueba microbiológica de Mohos no hay desarrollo de unidades formadoras de colonia (<3) y (0.5×10) solo tres tratamientos que nos indica una presencia muy mínima de mohos. Con respecto a la prueba microbiológica de salmonella se tomó 100gr de quitosano para cada tratamiento para poder realizar el análisis respecto a la **ICMSF Método 1, Pág. 166-167, 2da Ed., Reimpresión 200**, La cual nos indica que hubo

- ✓ ausencia de salmonella por lo tanto no hubo contaminación de origen fecal de animales.

- ✓ Se analizó variantes de rendimiento al quitosano obtenido (**Tabla 4.1**), concluimos que a menor diámetro número de partículas tamiz 60 se obtiene menor rendimiento 19.048 % y a mayor número de diámetro de partículas tamiz 18 se obtiene mayor rendimiento 24.592 %.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda trabajar con un tamiz de malla 30 para poder determinar si se obtiene un quitosano de mejor pureza ya que según nuestros resultados obtenidos un tamiz de malla 35 se logra obtener un quitosano de mejor pureza.
- Se puede trabajar con un tamiz de malla 60 (250 μm) que contiene partículas pequeñas y que sus resultados son parecidos a los del tamiz 35(500 μm).
- Se recomienda trabajar con un tamiz de malla menor a 18 para comparar si se a menor número de tamiz menor porcentaje de pureza, con un tamiz de malla 18 obtenemos un quitosano de pureza 51.52 % que simplemente no está puro, la partícula es muy grande y no ha reaccionado de la mejor manera con los reactivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- A.O.A.C. (1980). *Official Methods of Analyses of the Association of Official Analytical Chemists*. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Abraham Pastor de, A. (2004). *Quitina y Quitosano: Obtencion, caracterizacion y aplicaciones*. Peru: Pontificia Universidad Catolica del Peru .
- Aidoo, K. E. (1982). *Solid state fermentation. Advances of Applied Microbiology*. 28: 201-237.
- Alfonso, C. N. (1995). *Purification of a Heat-Stable Chitin Deacetylase from Aspergillus nidulans and Its Role in Cell Wall Degradation. Current Microbiology*. . 30: 49-54.
- Allan, C. R. (1979). *The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. Exp. Mycol.,* 3: 285–287.
- Araki, Y. a. (1975). *A pathway of chitosan formation in Mucor rouxii*. Eur. J. Biochem. 55, 71-78(1975).
- Arras, G. S. (2002). *Improving biocontrol activity of Pichia guilliermondii Against Post-harvest decay of oranges in commercial packing-houses by reduced concentrations of fungicides. Biocontrol Science and Technology*. 12:547-553.
- Axelsson, L. (1993). *Lactic acid bacteria: classification and physiology*. Salminen, S., von Wright, A., Ouwehand, A. Editors.
- Aye, K. N. (2006). *Peripheral enzymatic deacetylation of chitin and reprecipitated chitin particles. Bioresource Technology*. 97: 577-582.
- Ayelén A. Barra¹, A. S. (2012). *Enviado por los autores: alumnos de la Escuela Agropecuaria Provincial Nº 1 de Gobernador Gregores, 2.-Docente. beltra_154@yahoo.com.ar - biblioagro@yahoo*. Pcia. de Santa Cruz, Argentina.
- Bautista J., J. M. (2001). *Preparation of crayfish chitin by in situ lactic acid production. Process Biochem*. 37: 229–234.
- Beaney, P. L.-M. (2005). *Comparison of chitins produced by chemical and bioprocessing methods. Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 80 (2): 145-150.
- biagi, M. c. (n.d.). *Guía práctica para desarrollar proyectos de tesis*. . jurua editora Investigación científica-174 pag.(recuperado).

- C., M. D. (n.d.). *“Diseño y análisis de experimentos “ Universidad estatal de Arizona.* Tempe-arizona.: 2da edición. .
- Guía de investigación dpto.acad.investigacion de operaciones extraido de rumiche lopez juan carlos, (2014.).*
- M.N.V.R. Kumar, R. M. (2004). *Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives, Chem. Rev.* 104 (2004) 6017-6084. .
- Matsumoto, K. (2011- 12). *Producción de quitina y quitosano, nuevo proceso biotecnológico para la obtención de quitina y quitosano,.* Universidad Autónoma Metropolitana.
- Mesquita da silva, L. (2000). *Síntese e estudo de derivados do quitosano com potencial interesse biológico e ambiental,.* Universidade do Porto, dissertaçãosubmetida à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto para obtenção do grau de Mestreem Química.
- Montgomery, D. (n.d.) *” Experimental design for process Design and Development”, en journal of the royal statistical society, D vo, 159-177.*
- Odier, A. (1823). *“Mémoire sur la Composition Chimique des Paties Cornées des Insectes”.* Soc. Historie Nat., 1: 29- 42 , referenciado por BERGHOFF, Carla. Desarrollo y caracterización de matrices compuestas de quitosano/polímero sintético para regeneració.
- Paz, H. G. (2000). *Investigación científica.* 1era edición .

ANEXOS

Diseño Unifactorial para la variable de rendimiento:

ANEXO 1 *Diseño Unifactorial (rendimiento)*

RENDIMIENTO	1	2	3	4	5
18	24.592	24.512	24.471	24.391	24.416
35	23.816	23.225	23.001	23.616	23.154
60	19.048	19.011	19.0253	19.032	18.994

Fuente: Elaboración Propia.

ANEXO 2 *Análisis univariado de varianza (rendimiento)*

Factores inter-sujetos		
		N
TAMIZ	18,000	5
	35,000	5
	60,000	5

Fuente: Elaboración Propia

Variable dependiente: Rendimiento

ANEXO 3 ANOVA (*Pruebas de efectos inter-sujetos*)

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	88,149 ^a	2	44,075	314,166	,000
Intersección	7544,398	1	7544,398	53776,893	,000
TAMIZ	88,149	2	44,075	314,166	,000
Error	1,683	12	,140		
Total	7634,231	15			
Total corregido	89,833	14			

Fuente: Programa spss

a. R al cuadrado = ,981 (R al cuadrado ajustada = ,978)

Pruebas post hoc TAMIZ Subconjuntos homogéneos

ANEXO 4 *Duncan^{a,b} (Rendimiento)*

TAMIZ	N	Subconjunto		
		1	2	3
60,000	5	19,02200		
35,000	5		23,78190	
18,000	5			24,47640
Sig.		1,000	1,000	1,000

Fuente: Elaboración Propia

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

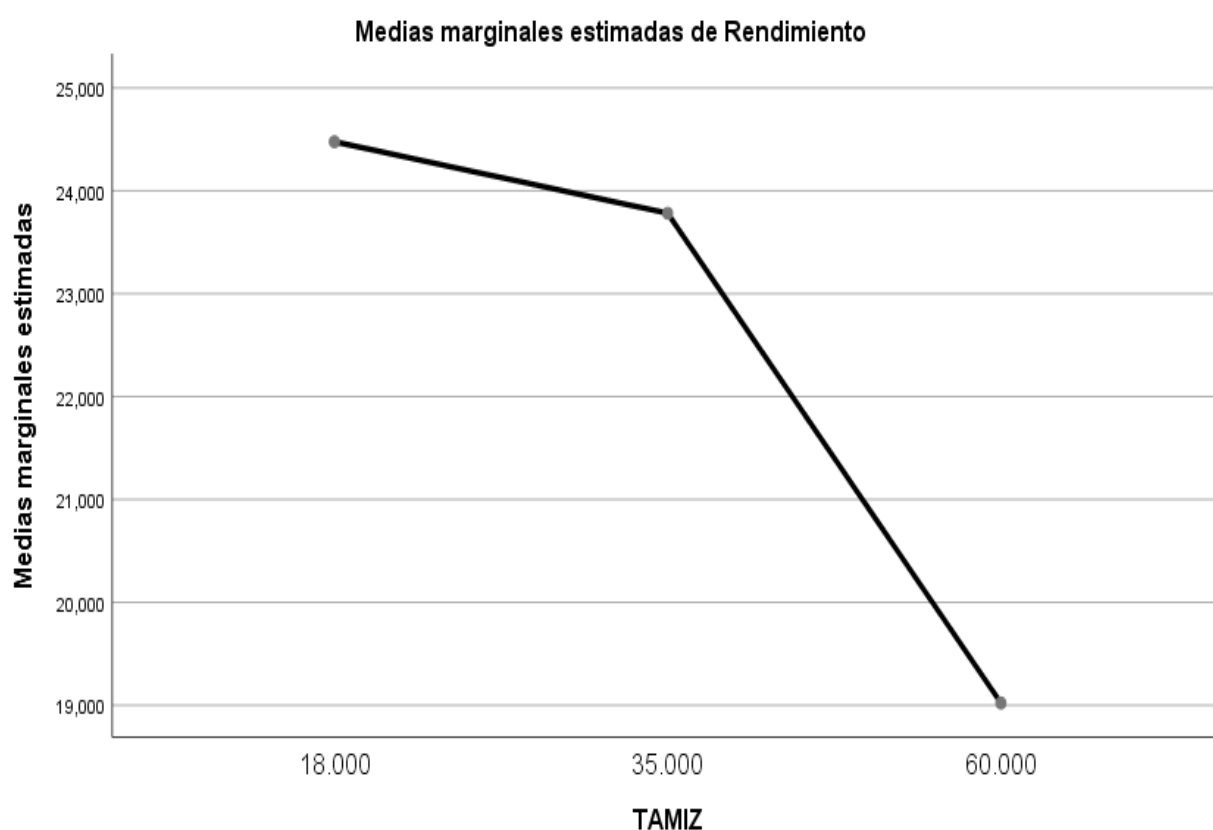
Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) =,140.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

b. Alfa = 0.05.

ANEXO 5 Promedio de los mejores rendimientos según el número de tamiz



Fuente: Programa spss

Extracción Química De La Quitina

Principio: Eliminar minerales y proteínas ligadas a la quitina a partir de ácidos y bases concentradas. Reactivos: HCl 3N, NaOH

Relación solido- LIQUIDO 1/10

5 GR MUESTRA → 50 ml de HCL

Obtener HCL A 3N cálculo para:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$3 \times 100 = 12 \times V_2$$

$$300/12 = V_2$$

$$25 = V_2$$

Luego de obtener quitosano se envió un gramo de cada muestra a la universidad nacional de ingeniería a la ciudad de Lima para que se realice el método de espectrofotometría el cual me indica el porcentaje de pureza de las muestras enviadas.

ANEXO 6 *Muestras enviadas para Espectrofotometría*

MUESTRA	OBTENCION DE QUITOSANO (gr)	MUESTRAS ENVIADAS A UNI(gr)
1	0,9524	0.1
2	11,908	0.1
3	12,296	0.1

Fuente: Elaboración propia

.

Método De N- Acetilación

Se emplea para determinar la cantidad de grupos aminos que ingresan a molécula de quitina y así formar el quitosano.

Se procede a pesar 0.5 gr de quitosano de cada muestra y se disuelven en 20 ml de HCL 0.3 N, se disuelve bien empleando un agitador, para luego empezar la titulación con NaOH 0.1 N.

En el siguiente **Anexo 7** se aprecia que se utilizó 5 gr de exoesqueletos para cada tratamiento, teniendo en cuenta que se realizaron 15 tratamientos.

ANEXO 7 *Muestras para el método de N- Acetilación*

N° MUESTRAS	DE TAMIZ (NUMERO)	PESO QUITOSANO (gr)	DE HCL (ml) 0.3N
5	18	0.5	20
5	35	0.5	20
5	60	0.5	20

Fuente: Elaboración propia

Fórmulas para obtener el porcentaje de grupos aminos en las muestras de quitosano

$$\%NH_2 = \left(\frac{16.1 \times (Y - X)}{W} \right) \times F$$

F= Concentración real NaOH

W= Peso biopolímero

Y= Punto de inflexión mayor volumen

X= Punto de inflexión menor volumen

$\%NH_2$ = Relacionado con el porcentaje de biopolímeros aminos

La siguiente **Anexo 8** y **Anexo 9** nos ayuda a entender cómo se obtuvieron los datos en el programa Excel, de primera derivada y segunda derivada en el método de N-acetilación.

Anexo 8 Ejemplo para obtener datos de N-Acetilacion

	A	B	C	D	E	F
1			PRIMERA DERIVADA		SEGUNDA DERIVADA	
2	VOLUMEN	pH	DIFERENCIA DE pH /DIF.VOLUMEN	VOLUMEN PROMEDIO	V PROMEDIO	d(dpH /dv)
3	0	1.3	0.01	0		0.01
4	2	1.32	0.015	1	2	0.00
5	4	1.35	0.02	3	4	0.00

Fuente: Elaboración Propia Programa Excel

En la siguiente **Anexo 9** se detalla cómo se obtienen los datos de las gráficas de la primera y segunda derivada en el método de N-Acetilación.

ANEXO 9 Formulas para obtener datos de N-Acetilación en programa Excel

	A	B	C	D	E	F
1			PRIMERA DERIVADA		SEGUNDA DERIVADA	
2	VOLUMEN	pH	DIFERENCIA DE pH /DIF.VOLUMEN	VOLUME N PROMEDI O	V. PROMEDIO	d(dpH /dv)
3	0	1.3	(B4 - B3)/(A4 - A3)	(A2+A3)/2	(D3+D4)/2	(C4-C3)/(D4-D3)
4	2	1.32	(B5 - B4)/(A5 - A4)	(A3+A4)/2	(D4+D5)/2	(C5-C4)/(D5-D4)
5	4	1.35	(B6 - B5)/(A6 - A5)	(A4+A5)/2	(D5+D6)/2	(C6-C5)/(D6-D5)

Fuente: Elaboración Propia Programa Excel

Reacción NaOH 0.1 N

1N

40 gr \rightarrow 1000 ml \rightarrow 1N

4 gr \rightarrow 1000 ml \rightarrow 0.1N

2 gr \rightarrow 500 ml \rightarrow 0.1N

Reacción HCL 0.3 N

0.3 N

$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$

12 X $V_1 = 0.3 \times 100$ ml

$V_1 = 2.5$ ml de HCL

1000 ml \rightarrow 12N

1000 ml \rightarrow 0.3N

2.5 ml \rightarrow 100 ml

Estandarización de NaOH 0.1 N

BIFTALATO DE POTASIO (KHP) PATRON PRIMARIO

PESO MOLECULAR = 204.23 gr/mol

Pesamos 0.2000 gr el cual se encuentra al 99.5 % de pureza y se lleva a la estufa (103 °C x 1 Hora)

KHP al 100% = 0.1990 gr

Llevamos los 0.2000 gr de KHP a una fiola y agregamos 10 ml de agua destilada para disolver la muestra, también añadimos tres gotas de fenolftaleína la cual es incolora.

Luego titulamos con NaOH hasta que cambie a color rosa obteniendo un volumen de gasto de 5.208 ml.

$$N\text{NaOH} \times V_{\text{gasto}} = \frac{W_{\text{KHP}}}{P.\text{Equivalente}}$$

$$N\text{NaOH} \times V_{\text{gasto}} = \frac{W_{\text{KHP}}}{204.23\text{gr/mol}}$$

$$N\text{NaOH} = \frac{W_{\text{KHP}}}{204.23 \times V_{\text{gasto}} \times 10^{-3}}$$

$$N\text{NaOH} = \frac{0.1990}{204.23 \times 5.208 \times 10^{-3}}$$

$$N\text{NaOH} = 0.1 \quad (\text{Concentración real})$$

Obtención de cenizas

En la siguiente **Anexo 10** se aprecia las fórmulas que se han empleado para obtener resultados de cenizas.

Anexo 10 *Formulas para determinar cenizas de quitosano*

DETALLES	MUESTRA N°1	MUESTRA N°2	MUESTRA N°3
Ceniza	0.0001 gr	0.0002 gr	0.0025 gr
Muestra	0.1005 gr	0.1004 gr	0.1005 gr
Formula	$X = \frac{0.0001 \text{ gr}}{0.1005 \text{ gr}} \times 100$	$X = \frac{0.0002 \text{ gr}}{0.1004 \text{ gr}} \times 100$	$X = \frac{0.0025 \text{ gr}}{0.1005 \text{ gr}} \times 100$
% cenizas	0.10 %	0.20 %	2.5 %

Fuente: Elaboración Propia

En la siguiente **Anexo 11** se aprecia las fórmulas que se han empleado para obtener resultados de humedad de quitosano.

Determinación de humedad de quitosano

ANEXO 11 *Formulas para determinar humedad de quitosano.*

DETALLES	MUESTRA N°1	MUESTRA N°2	MUESTRA N°3
Capsula vacía	37.1311 gr	44.3279 gr	38.9971 gr
Muestra	0.1504 gr	0.5668 gr	0.5331 gr
Capsula final	37.2724 gr	44.8497 gr	39.5076 gr
Formula (% H)	$\% H = 100 - \left(\frac{37.2724 \text{ gr} - 37.1311 \text{ gr}}{0.1504 \text{ gr}} \times 100 \right)$	$\% H = 100 - \left(\frac{44.8497 \text{ gr} - 44.3279 \text{ gr}}{0.5668 \text{ gr}} \times 100 \right)$	$\% H = 100 - \left(\frac{39.5076 \text{ gr} - 38.9971 \text{ gr}}{0.5331 \text{ gr}} \times 100 \right)$
Humedad	6.05%	7.94%	4.24%
Seco	93.95%	92.06%	95.76%

Fuente: Elaboración propia

Formación de la película

El siguiente **Anexo 12** nos explica el procedimiento que realizamos al final del proceso cuando ya obtuvimos las muestras de quitosano, para no dejarlas en polvo se formó una película agregando ácido acético.

ANEXO 12 *Formación de la película de quitosano.*

N°	PROCEDIMIENTO	MUESTRA N°1	MUESTRA N°2	MUESTRA N°3
1	Pesamos Quitosano	0.0555gr	0.1000 gr	0.1000 gr
2	Preparación de solución (ácido acético + H ₂ O destilada)	5ml de ácido acético lo llevamos a una fila de 100 ml y completamos con H ₂ O destilada	5ml de ácido acético lo llevamos a una fila de 100 ml y completamos con H ₂ O destilada	5ml de ácido acético lo llevamos a una fila de 100 ml y completamos con H ₂ O destilada
3	Solución de ácido acético 50%	5 ml	5 ml	5 ml
4	Disolución de la muestra	disolvemos en un vaso precipitado el quitosano con la solución	disolvemos en un vaso precipitado el quitosano con la solución	disolvemos en un vaso precipitado el quitosano con la solución
5	Vaciamos gel en la placa Petri	vaciamos la parte que se forma gel en la placa Petri	vaciamos la parte que se forma gel en la placa Petri	vaciamos la parte que se forma gel en la placa Petri

Fuente: Elaboración propia

El siguiente **Anexo 13** se aprecian los tamices utilizados en el laboratorio de microbiología de ingeniería pesquera los cuales ayudaron a obtener los tres diferentes tipos de tamices.

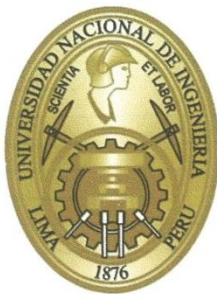


ANEXO 13 Numero de tamices según u.s.a estándar testing sieve

El siguiente **Anexo 14** se aprecia a mi persona realizando el método de desproteinización para la muestra 1, en el laboratorio de microbiología de la facultad de ingeniería pesquera.



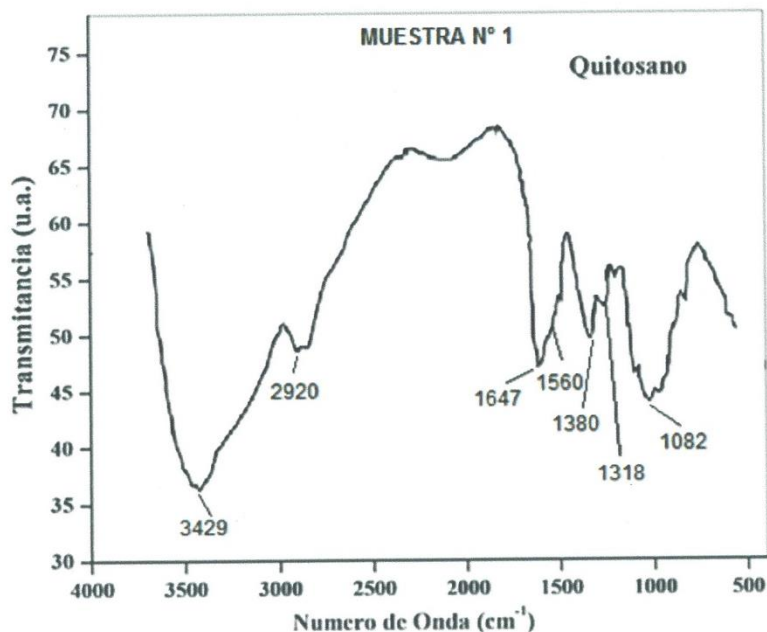
ANEXO 14 *Proceso de desproteinización*



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL Y MEDIO AMBIENTE
Av. Túpac Amaru 210 Lima 31, Perú. Central 4811070

INFORME DE ANÁLISIS QUÍMICO N°150

SOLICITADO POR: : Hans Yordi Sandoval Remaycuna
MUESTRA : Quitosano
N° DE MUESTRA : 03
PESO DE MUESTRA : 0.5 g. C/U
SERVICIO : Espectro IR-TF
PROYECTO : "Obtención de quitosano mediante el método de desacetilación a partir de exoesqueletos de langostino de cultivo Penaeus vannamei".
EQUIPO UTILIZADO : SHIMADZU FT-IR 8400 S
FECHA DE RECEPCIÓN : 07 de abril del 2018
FECHA DE ENSAYO : Del 07 al 10 de abril del 2018



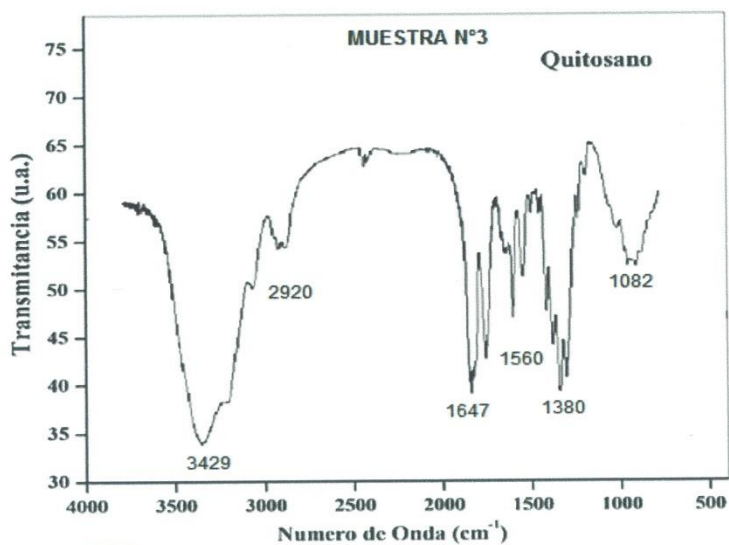
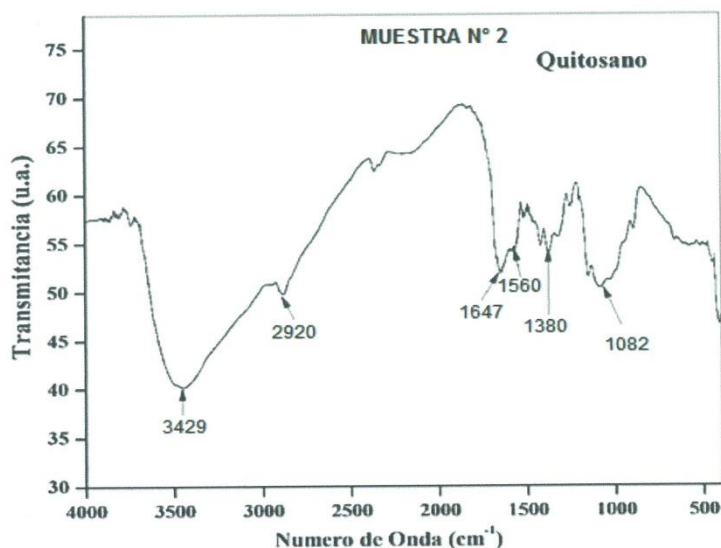
UNI, 10 de abril del 2018



Christian Jacinto Hernández
Químico CHRISTIAN JACINTO HERNÁNDEZ
LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL
Y MEDIO AMBIENTE FC-UNI



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL Y MEDIO AMBIENTE
Av. Túpac Amaru 210 Lima 31, Perú. Central 4811070



Christian Jacinto Hernández
Quím. CHRISTIAN JACINTO HERNÁNDEZ
LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL
Y MEDIO AMBIENTE FC-UNI

UNI, 10 de abril del 2018